

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

Ivana Ban

ULOGA PIVOTIRANJA MIKROTUBULA U
FORMIRANJU DIOBENOG VRETENA

Diplomski rad

Zagreb, 2016.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
FIZIČKI ODSJEK

SMJER: ISTRAŽIVAČKI

Ivana Ban

Diplomski rad

**Uloga pivotiranja mikrotubula u
formiranju diobenog vretena**

Voditelj diplomskog rada: izv. prof. dr. sc. Nenad Pavin

Ocjena diplomskog rada: _____

Povjerenstvo: 1. _____

2. _____

3. _____

4. _____

Datum polaganja: _____

Zagreb, 2016.

Zahvaljujem se svom mentoru izv. prof. dr. sc. Nenadu Pavinu na ukazanoj prilici za istraživačkim radom, povjerenju, prenesenom znanju i podršci tijekom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se mag. phys. Marcelu Prelogoviću na strpljenju, mnogobrojnim objašnjenjima i što je bio na raspolaganju kad god sam ga trebala.

Zahvaljujem se prof. dr. sc. Ivi Tolić i Lori Winters na prekrasnim eksperimentalnim filmovima, Ivani Šarić na pomoći sa grafički uređivanjem slika te Ani Milas na pomoći pri analizi.

Zahvaljujem se svim ostalim članovima Pavin grupe i Tolić laba na korisnim raspravama te zanimljivim sastancima grupe.

Zahvaljujem se svojim roditeljima, Zvonki i Spomenki Ban, i bratu Ivanu što su mi bili podrška te što su vjerovali u mene.

Zahvaljujem se Domagoju Kriškoviću na svim riječima potpore i što je cijelo vrijeme bio uz mene.

Zahvaljujem se svim prijateljima što su mi uljepšali studentske trenutke.

Sažetak

Tijekom stanične diobe, genetski se materijal dijeli u dva jednaka djela pomoću diobenog vretena. Diobeno je vreteno poput kompleksnog mikro-stroja kojeg čine kromosomi, mikrotubuli koji se protežu iz dva pola prema kromosomima te motorni proteini. Dio mikrotubula koji se protežu iz jednog pola diobenog vretena veže se s mikrotubulima koji se protežu iz suprotnog pola te na taj način formiraju antiparalelne svežnjeve. Formiranje i stabilnost ovih struktura osiguravaju motorni proteini. Međutim, fizikalni principi formiranja antiparalelnih svežnjeva još uvijek nisu poznati. U ovom radu razvijamo teorijski opis procesa formiranja antiparalelnih svežnjeva mikrotubula koji je motiviran najnovijim eksperimentima naših suradnika. Model uključuje nasumično kutno gibanje mikrotubula oko polova diobenog vretena uzrokovano termalnim fluktuacijama te privlačne sile kojima motorni proteini djeluju na mikrotubule. Kad su mikrotubuli dovoljno blizu jedan drugom, motorni proteini se vežu za njih, te svojim kretanjem prema polovima generiraju sile koje zakreću mikrotubule prema antiparalelnoj konfiguraciji. Ovaj model pokazuje da termalne fluktuacije i sile koje stvaraju motorni proteini omogućuju nastajanje antiparalelnih svežnjeva.

The role of microtubule pivoting in formation of mitotic spindle

Abstract

During cell division, the genetic material is divided into two equal parts by the mitotic spindle. This complex dynamic micro-machine is made of chromosomes, microtubules extending from two poles and a variety of accessory proteins. Microtubules extending from one spindle pole bind to those from the other spindle pole by motors and other cross-linking proteins, forming antiparallel bundles that comprise the spindle. Formation and stability of these structures is mediated by motor proteins. However, the physical principles behind the formation of antiparallel microtubule bundles are still not known. In this work we develop a theoretical description of the formation of antiparallel microtubule bundles motivated by the newest experimental work done by our collaborators. Our model includes the angular movement of microtubules around spindle poles and attractive forces exerted by motor proteins walking along the microtubules and cross-linking them. When two microtubules are found in close proximity to each other, motor proteins cross-link them and move towards the poles creating forces, which move the microtubules towards an antiparallel configuration. This model shows that thermal fluctuations and forces exerted by motor proteins facilitate formation of antiparallel microtubule bundles.

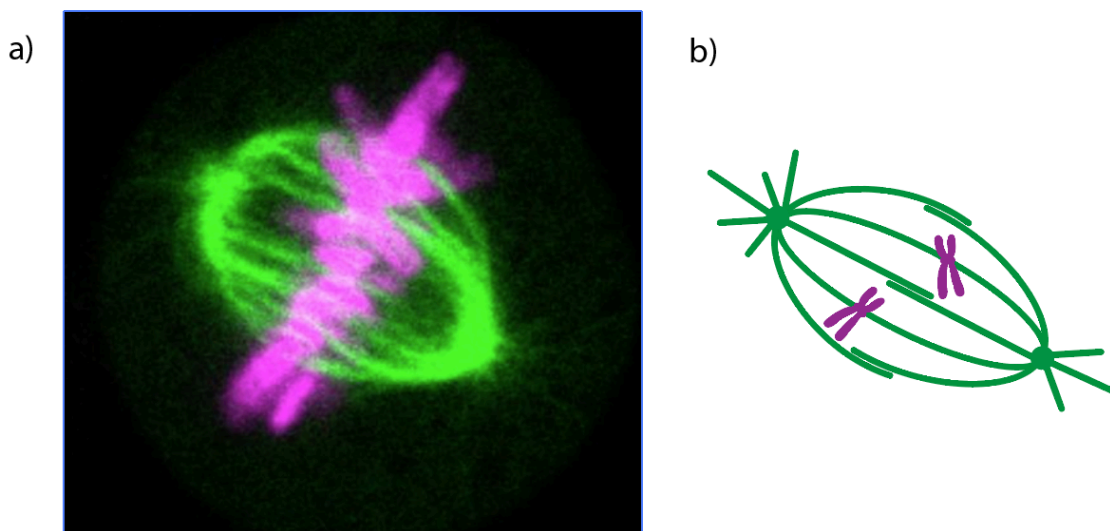
Sadržaj

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | Uvod..... | 1 |
| 1.1 | Mikrotubuli | 2 |
| 1.2 | Molekularni motori..... | 4 |
| 1.3 | Brownovo gibanje | 5 |
| 1.4 | Ito i Stratonovich dilema | 11 |
| 2 | Formiranje diobenog vretena opaženo svjetlosnim mikroskopom..... | 14 |
| 3 | Teorijski model..... | 16 |
| 4 | Rezultati modela | 20 |
| 4.1 | Jednadžba gibanja u Kartezijevim koordinatama | 20 |
| 4.2 | Jednadžba gibanja u sfernim koordinatama..... | 21 |
| 4.3 | Gustoća u adiabatskoj aproksimaciji | 24 |
| 4.4 | Deterministički momenti..... | 29 |
| 5 | Zaključak i budući ciljevi | 33 |

1 Uvod

Dioba stanica, kao najvažniji dio samoreplikacije, predstavlja osnovu života na Zemlji. Ona osigurava pravilnu raspodjelu genetskog materijala između stanica kćeri, omogućujući organizmima rast, razvoj te reprodukciju. Diobeno je vreteno mikro-stroj koji ima sposobnost samoorganizacije te tijekom mitoze dijeli genetski materijal u dvije stanice kćeri¹. Diobena vretena eksperimentalno se opažaju već dugi niz godina, no usprkos tome i dalje nije jasno na koji se način ono formira.

Diobeno vreteno ima karakterističan oblik, po čemu je i dobilo ime, koji je sačuvan u brojnim eukariotskim stanicama, uključujući i ljudske. Kao primjer, na slici 1.1a) prikazana je mikroskopska snimka diobenog vretena ljudske stanice u mitozu, preciznije u metafazi. Na slici se vide mikrotubuli (zeleno), i kromosomi (ljubičasto), te polovi diobenog vretena (zeleni krugovi). Shematski prikaz dan je na slici 1.1b).



Slika 1.1: Diobeno vreteno u ljudskoj stanici. a) Diobeno vreteno HeLa stanice (stanica tumora grlića maternice) snimljen svjetlosnim mikroskopom. b) Shematski prikaz diobenog vretena. Iz polova diobenog vretena (zeleni krugovi) se protežu mikrotubuli (zelene linije). Kromosomi (ljubičasto) su vezani na mikrotubule koje se protežu iz oba pola.

Nekoliko prijašnjih teorijskih radova opisuje mehanizam stvaranja diobenog vretena. Jedna od ranih studija je istraživala ulogu motornih proteina različitih usmjerenosti na proces stvaranja diobenog vretena u kompjutorskim simulacijama i otkrila da kompleksi motora različitih usmjerenosti mogu stvoriti strukture vrlo slične diobenom vretenu². Kombinacija motora različitih usmjerenja gibanja uključena je i u model nastanka

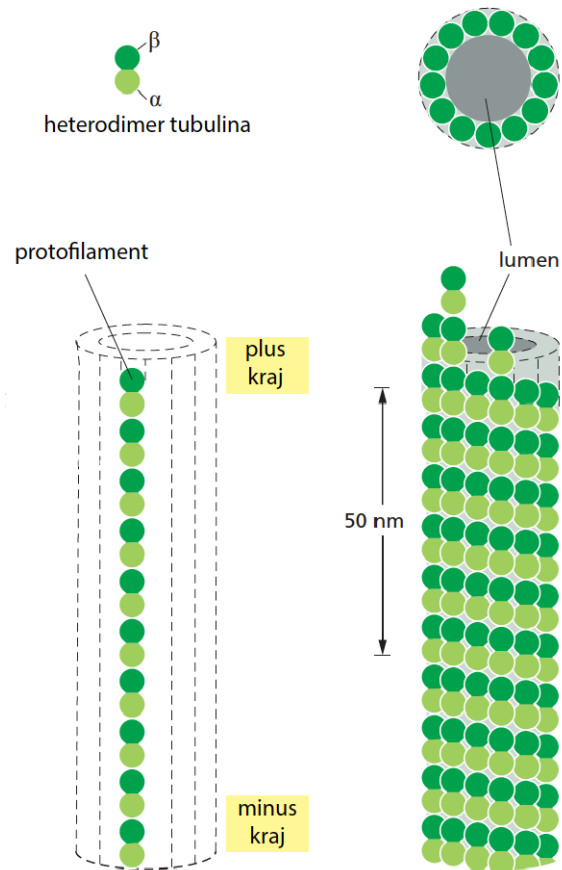
diobenog vretena u embriju mušice *Drosophila*³. Taj model je kasnije proširen tako što je uključena elastičnost jezgre⁴. Sustav na kojem se vrlo često proučava nastajanje diobenog vretena je ekstrakt jajašca žabe *Xenopus*. Model koji je uspješno primjenjen na taj sustav zove se engl. *slide-and-cluster*^{5, 6} u kojem se mikrotubuli transportiraju iz centra nukleacije koji je oko kromosoma prema periferiji gdje se sakupljaju. U njemu se za opisivanje dinamike mikrotubula u diobnom vretenu koristi teorija tekućih kristala^{7, 8}. Još jedna od interakcija kojom se pokušalo opisati nastajanje diobenog vretena je interakcija između mikrotubula i kromosoma^{9, 10}. Detaljniji pregledi dosadašnjih modela formacije diobenog vretena dani su u referencama¹¹⁻¹³. Iako je takvih modela mnogo, niti jedan ne uključuje angularno gibanje mikrotubula oko polova.

1.1 Mikrotubuli

Stanični kostur čine tri velike skupine filamenata: aktinski filamenti, mikrotubuli i intermedijalna vlakna. Svaka skupina filamenata je zaslužna za različite aspekte prostorne organizacije stanica te njenih mehaničkih svojstava. Mi ćemo se fokusirati na mikrotubule budući da ta skupina filamenata formira diobno vreteno koje u ovom radu proučavamo.

Mikrotubuli su polimeri proteina tubulina. Tubulin je heterodimer, odnosno sastoji se od globularnih proteina α -tubulina i β -tubulina koji su snažno vezani nekovalentnim vezama. Mikrotubuli su šuplje cilindrične strukture (poput šupljih cjevčica) zbog čega su dobili ovakvo ime. Građeni su od 13 paralelnih protofilamenata (slila 1.2). Protofilamente čine $\alpha\beta$ -tubulin heterodimeri poredani naizmjenično jedan za drugim u kolonu. Budući da svaka je svaka podjedinica protofilamenta usmjerena u istom smjeru, a protofilamenti su međusobno paralelni, onda i mikrotubuli imaju strukturnu i dinamičku polarnost. Kraj mikrotubula na kojem se nalazi β -tubulin zove se ‘minus kraj’ dok se onaj na kojem se nalazi α -tubulin zove ‘plus kraj’ mikrotubula (plus i minus ne odnose se na naboje). Plus kraj mikrotubula ima veću dinamiku, odnosno brže raste i brže se skraćuje. Dinamička svojstva mikrotubula omogućuje kemijska energija molekula GTPa. Dimeri tubulina mogu vezati dvije molekule GTP-a. Hidroliza GTP-a odvija se samo na podjedinici β -tubulina. Ukoliko podjedinice tubulina dolaze na plus kraj prije nego se desi hidroliza GTP na tom kraju imat ćemo polimerizaciju, odnosno rast mikrotubula. No, ukoliko je stopa spajanja podjedinica na plus kraj mikrotubula manja te se u podjedinicama tubulina koje su se prethodno spojile na mikrotubul već desila hidroliza GTP-a u GDP mikrotubul će se početi skraćivati. Ovakvo ponašanje, gdje imamo izmjenu faze rasta te skraćivanja mikrotubula

zove se dinamička nestabilnost. Promjena iz rasta mikrotubula u skraćivanje zove se *katastrofa*, dok se ponovna promjena u rast zove *spas*.¹⁴



Slika 1.2: Gore desno shematski je prikazan heterodimer tubulina. Kada se više heterodimera poreda jedan ispod drugoga formira se protofilament. Više protofilamenata (najčešće 13) čini mikrotubul, dolje desno. Jedan prsten mikrotubula prikazan je gore desno.

U stanicama se više mikrotubula može organizirati u veće strukture, koja ovisi o tipu stanice ili funkciju koju trebaju obaviti. U diobenom vretenu, mikrotubuli se protežu iz iz dva pola diobenog vretena¹⁵⁻¹⁷. Ukoliko rastu iz istog pola u istom smjeru formiraju strukture paralelnih mikrotubula, koje nazivamo paralelni svežnjevi¹⁸. Mikrotubuli koji rastu iz različitih polova jedan prema drugom, te se stoga protežu u suprotnom smjeru, formiraju strukture koje nazivamo antiparalelni svežnjevi¹⁸. Premda su mikrotubuli glavni elementi ovakvih struktura, za njihov su nastanak potrebni i dodatni građevni elementi koji su opisani u sljedećem odjeljku

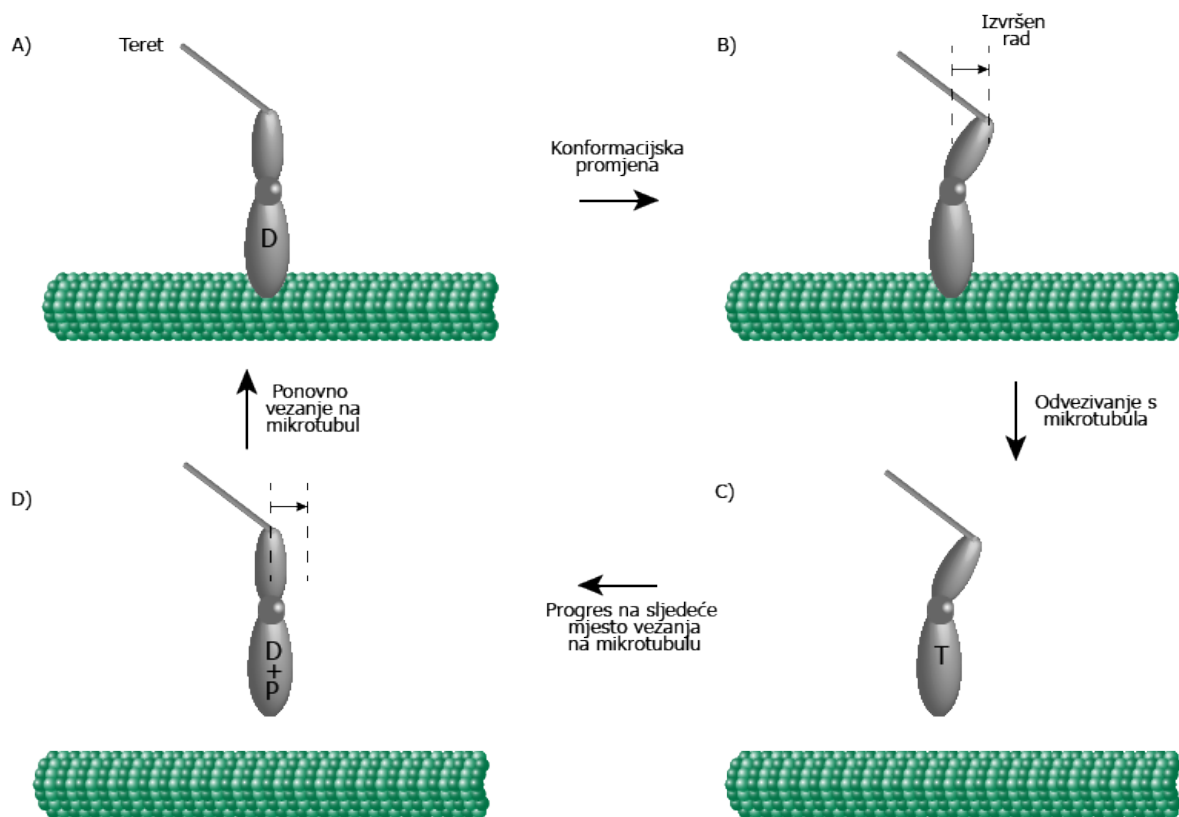
1.2 Molekularni motori

Vezu između mikrotubula ostvaruju proteini koji se mogu odjednom vezati na barem dva mikrotubula. Mogu se razlikovati po načinu na koji se kreću duž mikrotubula: (i) difuzivno odnosno pasivno te (ii) usmjereno uz potrošnju energije dobivene hidrolizom ATPa¹⁴.

U stanicama postoji velik broj motornih proteina koji se razlikuju po: tipu filamenata za koje se vežu (aktinska vlakla ili mikrotubuli), smjeru u kojem se gibaju duž filamenata te teretu koji nose. Motorni proteini imaju iznimno važne uloge u stanicama. Mnogi motorni proteini zaslužni su za prenošenje organela na odgovarajuća mjesta u stanici. Drugi motorni proteini uzrokuju klizanje filamenata jedan u odnosu na drugi te tako generirajući sile koje uzrokuju, na primjer, kontrakciju mišića i diobu stanica.

Postoje tri velike familije motornih proteina: *miozini*, koji se kreću po aktinskim filamentima i uzrokuju kontrakciju mišića, te *kinezini* i *dineini* koji se kreću po mikrotubulima te imaju bitnu ulogu u formiranju diobenog vretena. Za razliku od miozina, kinezini i dineini se gibaju vrlo usmjereno te može putovati stotinu ciklusa ATP hidrolize duž mikrotubula prije nego disociraju¹⁴. Upravo zato ove familije motora mogu uspješno prenositi teret s jednog dijela stanice na drugi.

Model koji opisuje gibanje motora po filamentu prikazan je na slici 1.3. Ključna reakcija za ovaj proces 'koračanja' motora po filamentu je hidroliza molekule ATP-a na ADP i fosfatnu skupinu (označena slovom P na slici). Motor uvijek teži stanju niže energije, stoga da bi se motor mogao vezati na vlakno mora ispustiti fosfatnu skupinu. Tada mu ostaje samo molekula ADP-a (slika 1.3 A). Sljedeći korak je jako bitan jer motor ispušta molekulu ADP-a uslijed čega se desi konformacijska promjena (koljeno motora se savija te tako povlači teret koji nosi), kemijske energija se pretvorila u mehanički rad (slika 1.3 B). Nakon toga, na motor se lijepi molekula ATP-a iz citoplazme te se motor odvaja od filamenta (slika 1.3 C). Vremenom on izgubi dio energije, ATP se hidrolizira u ADP + P, te se koljeno motora ispravlja (slika 1.3 D). U ovom koraku promjena konformacije neće izvršiti rad budući da motor nije vezan za filament. Ispuštanjem fosfatne skupine motor se vraća na filament te se proces ponavlja.



Slika 1.3: Shematski prikaz 'koračanja' motornog proteina po mikrotubulu. A) Motor je vezan na filament. B) Ispuštanje molekule ADP-a, koljeno motora se savija, kemijska energija pretvorena je u mehanički rad. C) Na motor dolazi ATP iz citoplazme, motor se odvajajući od filameta. D) ATP se hidrolizira u ADP + P, koljeno se ispravlja.

1.3 Brownovo gibanje

Promotrimo tijelo na koje djeluje neka vanjska sila \mathbf{F} . Ukoliko nema disipacije u sustavu, jednadžbu gibanja ovog tijela dobijemo vrlo jednostavno iz II Newtonovog zakona. Budući da sustavi bez disipacije nisu realni, pogledajmo što se događa ako u sustav uključimo disipaciju. Uzrok disipacije može, na primjer, biti trenje zbog gibanja po hrapavoj površini, viskozni otpor fluida, otpornik u RC krugu itd.¹⁹ Uzmimo za primjer tijelo koje slobodno pada kroz neki fluid. U tom slučaju u jednadžbu gibanja moramo dodati član koji je proporcionalan brzini ali suprotnog smjera od brzine (jednadžba gibanja: $m\mathbf{a} = \mathbf{F} - m\gamma\mathbf{v}$). Ako imamo disipaciju u sustavu onda imamo i fluktuacije. Budući da su i fluktuacije i disipacija posljedica sudara promatranog tijela s česticama iz fluida te dvije veličine moraju biti direktno povezane. Do disipacije energije u sustavu dolazi zbog kolektivnog efekta sudara promatranog tijela s česticama u okolini koji se manifestira kao otpor. Fluktuacije dolaze zbog individualnih sudara s česticama iz okoline. Taj efekt se ne opaža za makroskopska tijela koja su puno veća od čestica s kojima se sudaraju budući da su tada

individualni sudari imaju zanemariv efekt na naše tijelo. Ukoliko misaono smanjimo naše tijelo na skalu koja je usporediva s molekulama fluida u kojem se nalazi, onda će ono mijenjati brzinu i smjer uslijed svakog sudara s česticama iz okoline (iako će prosječne vrijednosti položaja i brzine biti isti kao da fluktuacija nema). Takvo ponašanje prvi put je uočio Robert Brown kada je opažao česticu peluda u fluidu i uočio da se ona giba vrlo nepravilno. Po njemu je takvo gibanje nazvano *Brownovo gibanje*. Jednadžba gibanja koja uključuje fluktuacije i disipaciju u sustavu glasi:

$$m\dot{v} = F - \gamma v + L(t), \quad (1.1)$$

gdje je $L(t)$ nasumična funkcija koja dolazi od fluktuacija u sustavu. Ova stohastička diferencijalna jednadžba zove se Langevinova jednadžba. Ona ima dva dijela, diskretni dio (prva dva člana s desne strane) koji uključuje vanjsku silu te gušenje sustava i stohastički dio (treći član s desne strane) koji uključuju mikroskopske fluktuacije.

Medij u kojem se nalazi tijelo koje promatramo sadrži mnoštvo čestica koje djeluju nasumičnim silama na tijelo. Sila od svake čestice ima neku raspodjelu. Prema *centralno graničnom teoremu*, u granici velikog broja čestica ukupna sila $L(t)$ imat će *Gaussovu raspodjelu*. Stoga, funkcija $L(t)$ ima dva bitna svojstva:

- 1) Kad ju usrednjimo po svim događajima ona iščezava. Upravo zato ju ne opažamo na makroskopskoj skali.

$$\langle L(t) \rangle = 0. \quad (1.2)$$

- 2) Drugo svojstvo glasi:

$$\langle L(t)L(t') \rangle = \sigma \delta(t - t'). \quad (1.3)$$

To svojstvo nam govori da su sudari trenutni i da nisu korelirani s prethodnim sudarima (možemo ih zamisliti poput delta funkcija koje nailaze na naše tijelo). Ovo je aproksimacija, zapravo bi trebali imati funkciju koja ovisi o $|t - t'|$ koja ima oštar vrh te čija širina odgovara trajanju pojedinoga sudara. No, budući da su ti sudari na vremenskoj skali puno manjoj od svih drugih relevantnih vremena, delta funkcija je dobra aproksimacija. σ je konstanta koja karakterizira fluktuacije te koju tek trebamo odrediti.

Da bi odredili konstantu σ vratiti ćemo se na jednadžbu (1.1). Radi jednostavnosti staviti ćemo da je vanjska sila jednaka nuli ($F = 0$) i da je masa jedinična ($m = 1$) pri čemu ne gubimo na općenitosti. Jednadžba (1.1) poprima oblik:

$$\dot{v} = -\gamma v + L(t). \quad (1.4)$$

Ova jednadžba opisuje na primjer gibanje čestice peluda u fluidu. Ona se može riješiti eksplicitno te njeno rješenje glasi:

$$v(t) = V_0 e^{-\gamma t} + \int_0^t dt' e^{-\gamma(t-t')} L(t'). \quad (1.5)$$

Ako usrednjimo ovu jednadžbu te pretpostavimo da su sve Brownove čestice imale istu početnu brzinu V_0 dobit ćemo srednju brzinu. Usrednjavanjem nam drugi član na desnoj strani isčezava zbog svojstva (1.2). Za srednju brzinu dobivamo:

$$\langle v(t) \rangle = V_0 e^{-\gamma t}. \quad (1.6)$$

Sada nas zanima kolika je srednja vrijednost kvadrata brzine. Da bi to dobili kvadrirat ćemo izraz (1.5)

$$\langle v(t)^2 \rangle = V_0^2 e^{-2\gamma t} + \int_0^t dt' \int_0^t dt'' e^{-\gamma(t-t')} e^{-\gamma(t-t'')} \langle L(t') L(t'') \rangle. \quad (1.7)$$

Nakon uvrštavanja svojstva (1.3) te rješavanja integrala dobivamo

$$\langle v(t)^2 \rangle = V_0^2 e^{-2\gamma t} + \frac{\sigma}{2\gamma} (1 - e^{-2\gamma t}). \quad (1.8)$$

Ako pustimo da $t \rightarrow \infty$ sustav će ući u stanje ravnoteže stoga prema *ekviparticijskom teoremu*, u sustavu opisanom klasičnom mehanikom svi neovisni kvadratni članovi u energiji nose u toplinskoj ravnoteži jednaku srednju energiju, $\frac{1}{2} k_B T$. U našem slučaju imamo $\langle v(\infty)^2 \rangle = k_B T$. Uvrštavanjem dobivamo izraz:

$$\langle v(\infty)^2 \rangle = \frac{\sigma}{2\gamma} = k_B T. \quad (1.9)$$

Ovaj izraz je važan jer nam karakterizira fluktuacije, σ , koje su mikroskopsko svojstvo sustava te ih povezuje sa gušenjem, γ , koje je makroskopsko svojstvo. Dobili da je gušenje potpuno karakterizirano preko mikroskopskih fluktuacija i temperature te je ovo reprezentativan primjer *fluktuacijsko disipacijskog* teorema.

Nasumičnu silu, $L(t)$, možemo rastaviti na dva dijela: fizikalni dio koji karakterizira fluktuacije, $\sqrt{2k_B T \gamma}$, te matematički dio, $\eta(t)$, koji predstavlja Gaussov bijeli šum za koji vrijede svojstva: $\langle \eta(t) \rangle = 0$ te $\langle \eta(t) \eta(t') \rangle = \delta(t - t')$. Stoga, možemo pisati:

$$L(t) = \sqrt{2k_B T \gamma} \eta(t). \quad (1.10)$$

Pogledajmo što ćemo dobiti za srednju vrijednost kvadrata položaja. Opet ćemo krenuti od jednadžbe (1.4):

$$\frac{d^2 x}{dt^2} = -\gamma \frac{dx}{dt} + L(t). \quad (1.11)$$

Množenjem jednadžbe (1.11) s x dobijemo:

$$\frac{1}{2} \frac{d^2(x^2)}{dt^2} - v^2 = -\frac{\gamma}{2} \frac{d(x^2)}{dt} + L(t)x. \quad (1.12)$$

Ukoliko imamo veliki broj identičnih čestica, možemo usrednjiti gornju jednadžbu koja vrijedi za pojedinačnu česticu te primijeniti ekviparticijski teorem. Srednja vrijednost $\langle L(t)x \rangle$ isčezava te jednadžba za $\langle x^2 \rangle$ glasi:

$$\frac{1}{2} \frac{d^2 \langle x^2 \rangle}{dt^2} + \frac{\gamma}{2} \frac{d \langle x^2 \rangle}{dt} = k_B T. \quad (1.13)$$

Sada možemo naći rješenje te jednadžbe:

$$\frac{d \langle x^2 \rangle}{dt} = \frac{2k_B T}{\gamma} + C e^{-\gamma t}, \quad (1.14)$$

gdje je C konstanta integracije. Drugi član s desne strane eksponencijalno trne u nulu stoga $d \langle x^2 \rangle / dt$ brzo postiže konstantnu vrijednost. Ako još jednom integriramo gornju jednadžbu (u asimptotskom režimu) dobivamo:

$$\langle x^2 \rangle - \langle x_0^2 \rangle = 2 \left(\frac{k_B T}{\gamma} \right) t. \quad (1.15)$$

Einstein je također proučavao Brownovo gibanje te je želio izračunati koliko se Brownova čestica pomakne u danom vremenskom intervalu. Čestice u fluidu gibaju se nasumično te rezultat nasumičnog gibanja je kolektivno gibanje čestica fluida koje opisuje jednadžba difuzije:

$$\frac{\partial p(x)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 p(x)}{\partial x^2}, \quad (1.16)$$

gdje je D konstanta difuzije, a $p(x)$ je vjerojatnost da česticu nađemo na mjestu x u trenutku t . Rješenje ove jednadžbe daje normalnu raspodjelu za $p(x)$ s varijancom koja je linearna u vremenu:

$$p = \frac{1}{\sqrt{4\pi D t}} e^{-\frac{x^2}{4Dt}}. \quad (1.17)$$

Ona kaže da je vjerojatnost da nađemo česticu u $x(t)$ Gaussijan čija širina ovisi o vremenu. Uvrštavanjem ovog rješenja natrag u jednadžbu difuzije dobivamo srednju kvadratnu udaljenost Brownove čestice:

$$\langle x^2 \rangle - \langle x_0^2 \rangle = 2Dt. \quad (1.18)$$

Dobili smo da je kvadratna udaljenost koju Brownova čestica prijeđe proporcionalna vremenu, a ne kvadratu vremena kao kod determinističkog gibanja. Iz usporedbe jednadžbe (1.15) i (1.18) možemo zaključiti o konstanti difuzije.

$$D = \frac{k_B T}{\gamma}. \quad (1.19)$$

Ovaj izraz još se naziva *Einsteinova relacija*. Ona je također primjer fluktuacijsko disipacijskog teorema jer povezuje makroskopsko svojstvo sustava, difuziju D , s mikroskopskim fluktuacijama. Zanimljivo je uočiti kako smo dobili ista rješenja za srednji kvadratni pomak Brownove čestice krećući od potpuno različitih principa. Ovime smo također povezali Langevinovu jednadžbu (1.1) koja je stohastička diferencijalna jednadžba s jednadžbom difuzije (1.16) koja je parcijalna diferencijalna jednadžba.

Budući da se molekule u fluidu gibaju nasumično u svim smjerovima, u prosjeku će se one gibati iz područja veće koncentracije u područje manje koncentracije. Stoga će struja čestica biti proporcionalna negativnom gradijentu koncentracije. No, budući da je koncentracija proporcionalna vjerojatnosti $p(x)$ možemo pisati:

$$J = -D \frac{dp}{dx}, \quad (1.20)$$

gdje je konstanta proporcionalnosti konstanta difuzije. Ova jednadžba je poznata kao *Fickov zakon*. Pogledajmo sada što se desi ako uključimo vanjsku silu, $F(x)$, na česticu. Sustavi u kojima promatramo Brownovo gibanje najčešće se nalaze u režimu jakog gušenja stoga će se sva sila koristiti za savladavanje trenja $v\gamma$, odnosno $ma \rightarrow 0$. Stoga, jednadžba gibanja glasi:

$$\frac{dx}{dt} = \frac{F(x)}{\gamma} + \sqrt{2D} \eta(t). \quad (1.21)$$

Drugi član s desne strane dobili smo zapisom $L(t)$ u obliku (1.10) nakon čega smo konstantu ispred $\eta(t)$ zapisali preko difuzijske konstante. Ukoliko pogledamo samo deterministički dio gornje jednadžbe dobit ćemo da se čestica giba brzinom $v(x) = F(x)/\gamma$ gdje je γ koeficijent gušenja. Iz toga možemo dobiti ukupni izraz za struju čestica na koje djeluje vanjska sila glasi:

$$J = \frac{F(x)}{\gamma} p(x) - D \frac{dp}{dx}. \quad (1.22)$$

Prvi član u gornjem izrazu za struju dolazi od usmjerenog gibanju čestica zbog vanjske sile dok drugi član odgovara svojstvu nasumičnog gibanja čestica. Budući da imamo očuvan broj čestica u sustavu, vrijedi *jednadžba kontinuiteta*:

$$\frac{\partial p}{\partial t} + \frac{\partial J}{\partial x} = 0. \quad (1.23)$$

Uvrštavanjem jednadžbe (1.22) u jednadžbu kontinuiteta dobivamo:

$$\frac{\partial p}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{F(x)}{\gamma} p(x) - D \frac{\partial p}{\partial x} \right]. \quad (1.24)$$

Ova jednadžba opisuje vremensku evoluciju gustoće vjerojatnosti za česticu na koju djeluje vanjska sila te nasumične sile. Ona je poznata kao *Fokker Planck* jednadžba, i nije specifična za Brownovo gibanje nego općenito vrijedi za neku stohastičku varijablu $x(t)$. Prvi član s desne strane zove se transportni član dok se drugi član naziva difuzijski član. Možemo primijetiti da je jednadžba difuzije (1.16) poseban slučaj Fokker Planck jednadžbe kad na česticu ne djeluje vanjska sila.

Usporedbom jednadžbe (1.21) i (1.24) možemo naći poveznicu između Langevinove i Fokker-Planck jednadžbe. U općenitom obliku, Langevineovu jednadžbu možemo napisati kao:

$$\frac{dx}{dt} = A(x) + B \eta(t). \quad (1.25)$$

Gdje je $A(x)$ neka diferencijabilna funkcija dok je B u ovom slučaju konstanta. Odgovarajuća Fokker-Planck jednadžba onda bi glasila:

$$\frac{dp}{dt} = -\frac{\partial}{\partial x} \left[A(x)p(x) - \frac{B^2}{2} \frac{\partial p}{\partial x} \right]. \quad (1.26)$$

Na taj način smo dobili korespondenciju između stohastičke diferencijalne jednadžbe koja opisuje promjenu neke varijable $x(t)$ u vremenu i parcijalne diferencijalne jednadžbe koja opisuje promjenu pridružene raspodjele vjerojatnosti $p(x, t)$.

Jednadžbe (1.25) i (1.26) lako je generalizirati na slučaj više dimenzija. Promotrimo n -dimenzionalni sustav na koji djeluje m različitih (bijelih) šumova. Definirajmo koordinatu \mathbf{x} kao vektor $\mathbf{x} = (x_1, \dots, x_n)$ i vektor šuma $\boldsymbol{\eta} = (\eta_1, \dots, \eta_m)$. Tada je Langevinova jednadžba koja opisuje taj sustav:

$$\frac{d\mathbf{x}}{dt} = \mathbf{A}(\mathbf{x}) + [\mathbf{B}] \boldsymbol{\eta}(t), \quad (1.27)$$

gdje je $\mathbf{A}(\mathbf{x})$ sada n -dimenzionalni vektor, a $[B]$ je $m \times n$ matrica koja je za sad i dalje konstantna. Ekvivalentna Fokker-Planck jednačba glasi:

$$\frac{dp}{dt} = -\nabla \cdot \left[\mathbf{A}(\mathbf{x})p(\mathbf{x}, t) - \frac{1}{2} [B][B]^T \nabla p \right], \quad (1.28)$$

gdje ∇ označava derivaciju duž koordinata, odnosno $\nabla = \left(\frac{\partial}{\partial x_1}, \dots, \frac{\partial}{\partial x_n} \right)$.

1.4 Ito i Stratonovich dilema

Pogledajmo sada što ako B u jednačbi (1.25) nije konstanta nego neka funkcija, $B(x)$. Langevinova jednačba sada glasi:

$$\dot{x} = A(x) + B(x)L(t). \quad (1.29)$$

Uvrštavanjem članova $A(x)$ i $B(x)$ u (1.26) dobivamo Fokker-Planck jednačbu:

$$\frac{dp}{dt} = \frac{\partial}{\partial x} [A(x)p(x) + B(x)B'(x)p(x)] + \frac{B^2}{2} \frac{\partial^2 p}{\partial x^2}. \quad (1.30)$$

No, ako se sada iz ove Fokker-Planck jednačbe pokušamo vratiti u Langevineovu jednačbu dobit ćemo:

$$\dot{x} = A(x) + B(x)B'(x) + B(x)L(t). \quad (1.31)$$

Možemo primijetiti da smo dobili jedan član viška. Da bi dobili početnu jednačbu (1.29) $B'(x)$ bi trebao iščezavati što je u kontradikciji s početnim pretpostavnom da je B funkcija od x . Odnosno, jednačba (1.29) nije dobro definirana. Bez da se kaže kako se rješava stohastički integral, ona predstavlja besmisleni nakupinu simbola. Budući da za nasumičnu funkciju $L(t)$ vrijedi (1.3) možemo ju vizualizirati kao slijed delta funkcija koje stižu u nasumičnim trenutcima. Svaka delta funkcija u $L(t)$ uzrokuje skok u $x(t)$. Stoga, vrijednost x u trenutku nailaska delta funkcije nije dobro definirana. Isto vrijedi i za $B(x)$. Iz jednačbe (1.29) nije jasno treba li vrijednost x uvrstiti u funkciju $B(x)$ prije ili poslije nailaska delta funkcije ili možda treba uzeti srednju vrijednost. Ovisno o tome koju opciju izaberemo dobit ćemo različite Fokker-Planck jednačbe. Stratonovich je odlučio uzeti srednju vrijednost pri čemu imamo:

$$x(t + \Delta t) - x(t) = A(x(t))\Delta t + B\left(\frac{x(t + \Delta t) + x(t)}{2}\right) \int_t^{t+\Delta t} L(t')dt'. \quad (1.32)$$

Ako na ovaj način shvatimo jednačbu (2.23) dobit ćemo Fokker-Planck jednačbu oblika:

$$\frac{\partial p(v, t)}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} (A(x) + B(x)B'(x))p + \frac{\partial^2}{\partial x^2} B(x)^2 p. \quad (1.33)$$

Za razliku od Stratonovicha, Ito je uzeo vrijednost x prije nailaska delta funkcije. On je jednadžbu (1.29) shvatio na način:

$$x(t + \Delta t) - x(t) = A(x(t))\Delta t + B(x(t)) \int_t^{t+\Delta t} L(t')dt'. \quad (1.34)$$

Ovakvom interpretacijom dobijemo Fokker-Planck jednadžbu oblika:

$$\frac{\partial p(v, t)}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x} A(x)p + \frac{\partial^2}{\partial x^2} B(x)^2 p. \quad (1.35)$$

Ukoliko $L(t)$ nije delta funkcija nego neka funkcija oštrog vrha s konačnim vremenom sudara ($\tau_c > 0$) onda je (1.29) dobro definirana stohastička diferencijalna jednadžba s dobro definiranom rješenjem. Ako uzmemo limes tog izraza kada $\tau_c \rightarrow 0$ dobit ćemo rješenje Stratonovich forme Fokker-Planck jednadžbe. Ito interpretacija ne može uopće biti formulirana ukoliko τ_c nije striktno nula.

Drugačije interpretacije vode na drugačije članove s desne strane u jednadžbama (1.33) i (1.35). Da bi riješili dilemu koju interpretaciju koristiti moramo razlikovati ukoliko je šum nametnut iz vana ili je to šum iz sustava. Vanjski šum odgovara fluktuacijama u inače determinističkom sustavu zbog utjecaja neke nasumične sile. U tom slučaju jednadžba (1.29) je dobro definirana ukoliko $A(x)$ odgovara determinističkom gibanju izoliranog sistema, dok $L(t)$ aproksimiramo bijelim šumom. Stoga, za vanjski šum vrijedi Stratonovich interpretacija te ćemo za takav sistem imati Fokker-Planck jednadžbu oblika (1.31). Intrinzični šum uzrokovan je činjenicom da se sistem sastoji od diskretnim česticama, taj šum dolazi iz samog mehanizma kojim se sustav razvija. Budući da njega ne možemo isključiti, nemoguće je definirati $A(x)$ kao jednadžbu razvoja izoliranog sistema.

U literaturi se obično za jednadžbu napisanu kao (1.29) pretpostavlja Ito interpretacija. Ako se radi o Stratonovich interpretaciji, jednadžbu (1.29) treba zapisati kao:

$$\dot{x} = A(x) + B(x) \circ L(t). \quad (1.36)$$

Ovdje znak ' \circ ' označava Stratonovich interpretaciju.¹⁹ Iako za Langevinove jednadžbe s konstantnim šumom, kao što je (1.27) nema smisla navoditi interpretaciju, treba biti na oprezu kad se na takvim jednadžbama rade algebarske operacije (npr. promjena koordinatnog sustava, računanje funkcije udaljenosti itd.). Ukoliko se za rezultat dobije nova jednadžba u kojoj matrica šumova više nije konstantna, takva jednadžba se mora shvatiti u Stratonovich interpretaciji! Prednost Stratonovich interpretacije je da se u njoj mogu raditi sve algebarske operacije na isti način kao što bi se radile na običnoj

diferencijalnoj jednadžbi. Da bi se dobila Ito interpretacija stohastičke diferencijalne jednadžbe oblika $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{A}(\mathbf{x}) + [B(\mathbf{x})] \circ \boldsymbol{\eta}(t)$, potrebno je s desne strane dodati još jedan deterministički član, engl. *spurious drift*. Njega dobivamo tako da prvo šum zapišemo kao $\sum_{i=1}^m \mathbf{V}_i(\mathbf{x})\eta_i$, gdje su \mathbf{V}_i vektor stupci matrice $[B]$. Zatim se dodatni član računa kao²⁰:

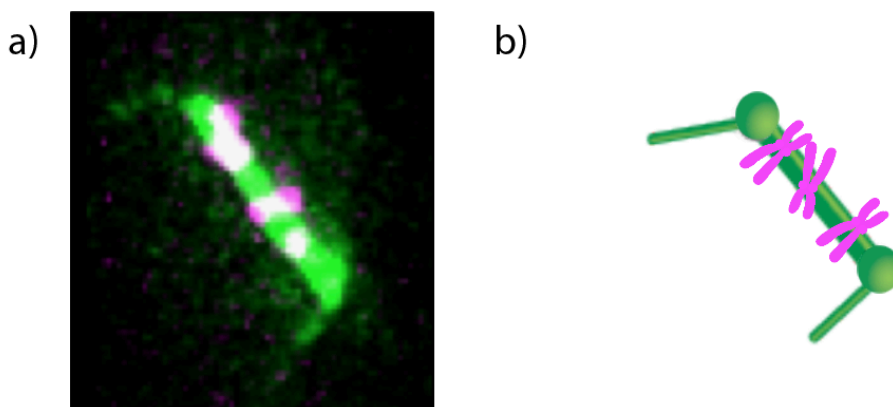
$$\bar{\mathbf{A}}(\mathbf{x}) = (1/2) \sum_{i=1}^m \nabla_{\mathbf{V}_i} \mathbf{V}_i(\mathbf{x}), \quad (1.37)$$

gdje $\nabla_{\mathbf{V}_i}$ označava usmjerenu derivaciju duž vektora \mathbf{V}_i . Ta jednadžba u Ito interpretaciji tada glasi $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{A}(\mathbf{x}) + \bar{\mathbf{A}}(\mathbf{x}) + [B(\mathbf{x})]\boldsymbol{\eta}(t)$.

2 Formiranje diobenog vretena opaženo svjetlosnim mikroskopom

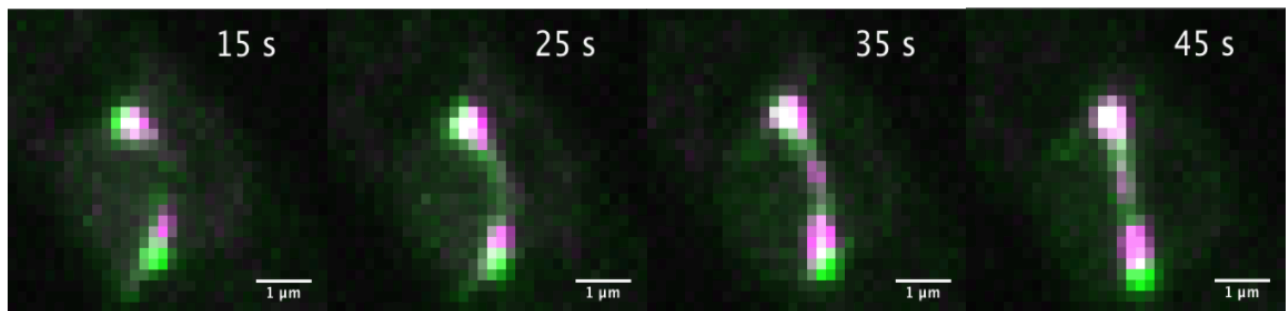
Diobeno vreteno čine paralelni¹⁶ i antiparalelni svežnjevi mikrotubula^{1, 17}. Stoga da bi razumjeli način na koji se formira diobeno vreteno moramo istražiti kako se formiraju svežnjevi mikrotubula. Model za paralelne svežnjeve mikrotubula je već napravljen²¹ a cilj ovog rada je napraviti model za antiparalelne svežnjeve mikrotubula.

Proces formiranja diobenog vretena proučavan je u stanicama kvasca *S. pombe*. Ovaj sistem pogodan je za proučavanje samoorganizacije zbog malog broja mikrotubula u diobenom vretenu te jednostavnog izgleda diobenog vretena²² (slika 2.1) za razliku od diobenog vretena u ljudskim stanicama koji je puno kompleksnijeg izgleda (slika 1.1).



Slika 2.1: Diobeno vreteno stanice kvasca *S. Pombe* a) Diobeno vreteno stanice kvasca snimljeno svjetlosnim mikroskopom. Zeleno svjetlo dolazi od mikrotubula i polova diobenog vretena, a ružičasto od kinetohora. b) Shematski prikaz diobenog vretena stanice kvasca. Mikrotubuli su prikazani tankim zelenim štapovima, dok debeli zeleni štap predstavlja više svežnjeva mikrotubula koji su formirali diobeno vreteno. Ružičastom bojom su prikazani kromosomi (nisu vidljivi na mikroskopskoj slici).

Motivacija za ovaj model bili su eksperimenti grupe prof. Ive Tolić. Oni su promatrali stanice kvasca konfokalnim svjetlosnim mikroskopom. U stanicama koje su promatrali, bili su označeni mikrotubuli te motorni proteini na način da je fluorescentni protein poput neke svjetlosne probe vezan za tubulin. Na slici 2.2 prikazana su 4 vremenska isječka eksperimentalnog snimka. Zelenom bojom označeni su mikrotubuli, ružičastom motorni proteini dok bijela boja dolazi od preklapanja zelene i ružičaste boje. Na prvom i drugom isječku možemo primijetiti mikrotubule koji rastu iz polova diobenog vretena te motorne proteine koji su smješteni blizu polova. Mikrotubuli pivotiraju te kad dođu blizu jedan drugome možemo primijetiti pojavu ružičastog signala na mjestu preklopa mikrotubula (3. isječak na slici 2.2). Na kraju vidimo antiparalelnu organizaciju mikrotubula te formiranje diobenog vretena.

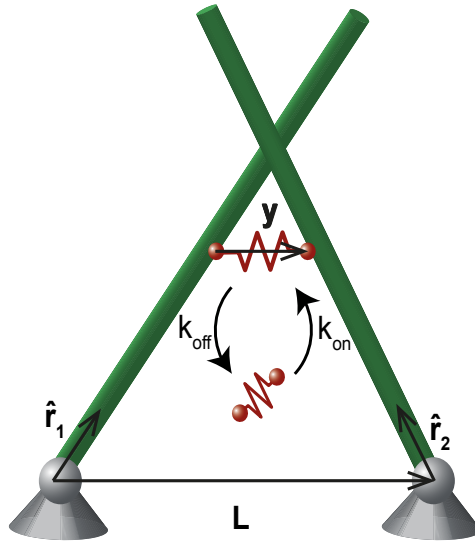


Slika 2.2: Formiranje antiparalelnih svežnjeva. Prikaz četiri vremenska isječka snimljena svjetlosnim mikroskopom u kojima se vidi proces formiranja antiparalelnih svežnjeva u stanicama kvasca *S. pombe*. Mikrotubuli su prikazani zelenom bojom, a vezujući proteini ružičastom bojom.

3 Teorijski model

Eksperimenti naših suradnika su pokazali da mikrotubuli mijenjaju svoju orijentaciju prije nego što se vežu u antiparalelne svežnjeve. Da bismo istražili dinamiku opisanog procesa te ulogu motornih proteina u formiranju antiparalelnih svežnjeva razvili smo teorijski model. Ukratko, model se sastoji od nekoliko važnih komponenti: (i) pivotiranje mikrotubula oko pola diobenog vretena koje dolazi zbog sila koje generiraju molekularni motori koji povezuju mikrotubule i zbog sudara s česticama iz okoline²², te (ii) nakupljanja motornih proteina na mikrotubulima te njihova redistribucija duž mikrotubula²³⁻²⁵.

Sustav se sastoji od dva mikrotubula koje opisujemo kao dva tanka, ravna štapa duljina R_1 i R_2 , kojima je jedan kraj zglobovno vezan za polove diobenog vretena što im omogućuje kutno gibanje (slika 3.1). Polovi diobenog vretena međusobno su udaljeni za vektor \mathbf{L} .



Slika 3.1: Shema modela. Mikrotubuli (zeleni štapovi) rastu iz dva pola diobenog vretena (sivi krugovi) koji su udaljeni za konstanti vektor \mathbf{L} . Jedinični vektori $\hat{\mathbf{r}}_1$ i $\hat{\mathbf{r}}_2$ označavaju orijentacije mikrotubula. Vezujući proteini (crvene opruge) vežu se i odvezuju sa mikrotubula sa stopama k_{on} i k_{off} . Elongacija proteina koji je vezan za mikrotubule označena je sa y .

Orijentaciju pojedinog mikrotubula opisujemo jediničnim vektorima $\hat{\mathbf{r}}_1$ i $\hat{\mathbf{r}}_2$. Promjena orijentacije jediničnih vektora u vremenu dana je kao:

$$\frac{d\hat{\mathbf{r}}_{1,2}}{dt} = \boldsymbol{\omega}_{1,2} \times \hat{\mathbf{r}}_{1,2}, \quad (3.1)$$

gdje je $\omega_{1,2}$ kutna brzina pojedinog mikrotubula. Nukleoplazma, u kojoj se nalazi sustav koji promatramo, je gust medij stoga promatramo režim jakog gušenja. U tom režimu možemo zanemariti članove koji sadrže inerciju stoga je kutno trenje, uravnoteženo ukupnim momentom sile $\mathbf{T}_{1,2}$:

$$\omega_{1,2}\gamma_{1,2} = \mathbf{T}_{1,2}. \quad (3.2)$$

Ovdje je $\gamma_{1,2}$ koeficijent kutnog trenja. Ukupni moment sile sastoji se od dva doprinosa:

$$\mathbf{T}_{1,2} = \boldsymbol{\tau}_{1,2} + \sigma_{1,2} (\hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \boldsymbol{\eta}_{1,2}(t)). \quad (3.3)$$

Prvi član s desne strane predstavlja deterministički član koji dolazi od sile kojom motorni proteini djeluju na mikrotubule, dok drugi član predstavlja stohastičku komponentu koja dolazi od nasumičnih termalnih fluktuacija. Kao što je spomenuto u prethodnom poglavlju, $\boldsymbol{\eta}_i = (\eta_n)_i$, $n=1, 2, 3$ predstavlja 3D Gaussov bijeli šum gdje $i=1, 2$ označava pojedini mikrotubul. Za vremenske trenutke t i t' , n -ta i m -ta komponenta zadovoljavaju jednadžbu $\langle \eta_n(t), \eta_m(t') \rangle = \delta(t - t') \delta_{mn}$. $\sigma_{1,2}$ je konstanta koja karakterizira šum, njezin iznos dobijemo dobijemo iz ekviparticijskog teorema, $\sigma_{1,2} = \sqrt{2k_B T \gamma_{1,2}}$ (pogledati poglavlje 1.3). Uvrštavanjem izraza za difuzijsku konstantu (1.19) dobivamo $\sigma_{1,2} = \sqrt{2D_{1,2}}$. Uzimajući to u obzir te uvrštavanje jednadžbe (3.2) u (3.3) dobivamo Langevineovu jednadžbu za naš sustav:

$$\omega_{1,2} = \frac{D_{1,2}}{k_B T} \boldsymbol{\tau}_{1,2} + \sqrt{2D_{1,2}} (\hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \boldsymbol{\eta}_{1,2}(t)). \quad (3.4)$$

Istegnuće motornih proteina aproksimiramo Hookeovim oprugama pa je sila kojom jedan motorni protein djeluje na prvi mikrotubul proporcionalna elongaciji, \mathbf{y} , te je istog iznosa i suprotnog smijera od sile kojom isti motorni protein djeluje na drugi mikrotubul: $\mathbf{f}_{1,2} = \pm k\mathbf{y}$. Ako definiramo vektore koji imaju smjer duž mikrotubula $\mathbf{r}_1 = r_1 \hat{\mathbf{r}}_1$ i $\mathbf{r}_2 = r_2 \hat{\mathbf{r}}_2$, za doprinos momentu sile od motornih proteina na elemente mikrotubula $[\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_1 + d\mathbf{r}_1]$ i $[\mathbf{r}_2, \mathbf{r}_2 + d\mathbf{r}_2]$ dobivamo:

$$d\boldsymbol{\tau}_{1,2} = \mathbf{r}_{1,2} \times (\pm k\mathbf{y}) dN(r_1, r_2, t), \quad (3.5)$$

gdje $dN(r_1, r_2, t)$ označava broj motornih proteina koji se vežu na elemente mikrotubula $[\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_1 + d\mathbf{r}_1]$ i $[\mathbf{r}_2, \mathbf{r}_2 + d\mathbf{r}_2]$. Budući da u nukleoplazmi ima puno motornih proteina prelazimo u granicu srednjeg polja te umjesto diskretnog broja motornih proteina koji se vežu na mikrotubule promatramo njihovu kontinuiranu raspodjelu: $dN(r_1, r_2, t) = \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2$. Iz geometrije slike 3.1 dobivamo izraz za elongaciju $\mathbf{y} = \mathbf{L} + \mathbf{r}_2 - \mathbf{r}_1$.

Uvrštavanjem tog izraza u jednadžbu (3.5) te integriranjem duž mikrotubula dobivamo ukupne momente sila kojima vezujući proteini djeluju na mikrotubule:

$$\boldsymbol{\tau}_1 = k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_1 (\hat{\mathbf{r}}_1 \times \mathbf{L} + r_2 \hat{\mathbf{r}}_1 \times \hat{\mathbf{r}}_2) \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2, \quad (3.6)$$

$$\boldsymbol{\tau}_2 = -k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_2 (\hat{\mathbf{r}}_2 \times \mathbf{L} - r_1 \hat{\mathbf{r}}_2 \times \hat{\mathbf{r}}_1) \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2, \quad (3.7)$$

gdje granice R_1 i R_2 označuju duljinu prvog i drugog mikrotubula. Da bi izračunali integrale u izrazima za momente sila potrebno je prvo dobiti izraz za gustoću motornih proteina.

Promjena gustoće motornih proteina u vremenu u granici srednjeg polja dana je jednadžbom:

$$\frac{\partial \rho(r_1, r_2, t)}{\partial t} = ck_{\text{on}} - k_{\text{off}}\rho - \frac{\partial j_1}{\partial r_1} - \frac{\partial j_2}{\partial r_2}. \quad (3.8)$$

Prva dva člana s desne strane predstavljaju stope kojima se motorni proteini vežu i odvezuju s mikrotubula, gdje c odgovara koncentraciji motornih proteina u citoplazmi. Budući da motorni proteini osjećaju termalne fluktuacije njihova su istegnuća opisana Maxwell-Boltzmannovom raspodjelom. Stoga, stopu kojom se motorni proteini vežu na mikrotubule opisujemo:

$$k_{\text{on}} = k_0 e^{-\frac{ky^2}{2k_B T}}, \quad (3.9)$$

gdje je k_0 konstanta vezanja. Budući da potencijalna energija opruge sadrži samo kvadratni član elongacije ova raspodjela je normalna raspodjela koja ima vrlo oštar i uzak vrh upravo zbog male duljine motornih proteina, stoga će stopa vezanja drastično opadati kako se elongacija povećava. Zbog jednostavnosti pretpostavljamo da je stopa kojom se motorni proteini odvezuju s mikrotubula, k_{off} je konstantna. Struje vezujućih proteina, $j_{1,2}$, dane su jednadžbom:

$$j_{1,2} = \rho v_{1,2} - D \frac{\partial \rho}{\partial r_{1,2}}. \quad (3.10)$$

Prvi član s desne strane opisuje usmjereno gibanje motora dok drugi, difuzijski član, dolazi zbog fluktuacija u brzini. Iz literature je poznato da se brzina motornih proteina može opisati linearnom ovisnosti o komponenti sile duž mikrotubula:

$$v_{1,2} = v_0 \left(1 - \frac{\mathbf{f}_{1,2} \cdot \hat{\mathbf{r}}_{1,2}}{f_0} \right). \quad (3.11)$$

Ako na motorni protein ne djeluje sila ili je ona okomita na smjer mikrotubula motorni protein će se kretati konstantnom brzinom v_0 . Kad se vezujući protein spoji na mikrotubule on je giba sve dok komponenta sile duž mikrotubula ne dosegne vrijednost f_0 , kada dosegne vrijednost f_0 motor se zaustavi. Motorni proteini mogu se gibati u oba smjera duž mikrotubula, prema slobodnom kraju mikrotubula ili prema polu diobenog vretena. Smjer gibanja motornog proteina određuju konstante v_0 i f_0 . Ukoliko se motori gibaju prema slobodnom kraju mikrotubula v_0 će biti pozitivna konstanta dok će f_0 biti negativan budući da on djeluje u smjeru suprotnom gibanju motora. Motori koji se gibaju prema polu diobenog vretena imat će negativnu konstantu v_0 , a pozitivan f_0 . Položaj na kojem se motor zaustavio označujemo sa r_{stall} , a dobijemo ga iz uvjeta da brzina iščezava. Nakon što se motor zaustavi.

4 Rezultati modela

4.1 Jednadžba gibanja u Kartezijevim koordinatama

Uvrštavanjem jednadžbe (3.4) u (3.1) jednadžba gibanja za jedinične vektore $\hat{\mathbf{r}}_1$ i $\hat{\mathbf{r}}_2$ postaje:

$$\frac{\partial \hat{\mathbf{r}}_{1,2}}{\partial t} = \left[\frac{D_{1,2}}{k_B T} \boldsymbol{\tau}_{1,2} + \sqrt{2D_{1,2}} \hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \boldsymbol{\eta}_{1,2}(t) \right] \times \hat{\mathbf{r}}_{1,2}. \quad (4.1)$$

Momente sila možemo zapisati kao:

$$\begin{aligned} \boldsymbol{\tau}_1 = & \left[k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_1 L \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2 \right] \hat{\mathbf{r}}_1 \times \hat{\mathbf{z}} \\ & + \left[k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_1 r_2 \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2 \right] \hat{\mathbf{r}}_1 \times \hat{\mathbf{r}}_2, \end{aligned} \quad (4.2)$$

$$\begin{aligned} \boldsymbol{\tau}_2 = & \left[-k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_2 L \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2 \right] \hat{\mathbf{r}}_2 \times \hat{\mathbf{z}} \\ & + \left[k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_1 r_2 \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2 \right] \hat{\mathbf{r}}_2 \times \hat{\mathbf{r}}_1. \end{aligned} \quad (4.3)$$

Gdje su uzeli da je $\mathbf{L} = L\hat{\mathbf{z}}$. Izraze u prvim zagradama označit ćemo s τ_{1L} , τ_{2L} , a izraz u drugoj zagradi s τ_R budući da su jednaki za oba momenta sile

$$\boldsymbol{\tau}_{1,2} = \tau_{1L,2L} \hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \hat{\mathbf{z}} + \tau_R \hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \hat{\mathbf{r}}_{2,1}. \quad (4.4)$$

Uvrštavanjem gornjeg izraza u jednadžbu (4.1) dobivamo:

$$\frac{\partial \hat{\mathbf{r}}_{1,2}}{\partial t} = \left[\frac{D_{1,2}}{k_B T} (\tau_{1L,2L} \hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \hat{\mathbf{z}} + \tau_R \hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \hat{\mathbf{r}}_{2,1}) + \sqrt{2D_{1,2}} \hat{\mathbf{r}}_{1,2} \times \boldsymbol{\eta}_{1,2}(t) \right] \times \hat{\mathbf{r}}_{1,2}. \quad (4.5)$$

Vektorski produkt može se napisati kao produkt antisimetrične matrice i vektora. Na primjer za vektorski produkt općenitih vektora $\mathbf{a} = (a_x, a_y, a_z)$ i $\mathbf{b} = (b_x, b_y, b_z)$ vrijedi:

$$\mathbf{a} \times \mathbf{b} = [\mathbf{a}]_x \mathbf{b} = [\mathbf{b}]_x^T \mathbf{a}, \quad (4.6)$$

$$[\mathbf{a}]_x = \begin{bmatrix} 0 & -a_3 & a_2 \\ a_3 & 0 & -a_1 \\ -a_2 & a_1 & 0 \end{bmatrix}. \quad (4.7)$$

Ako to primijenimo na jednadžbu (4.5) dobivamo:

$$\begin{aligned}\dot{\hat{\mathbf{r}}}_{1c,2c} = & \frac{D_{1,2}}{k_B T} \left(\tau_{1L,2L} [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_C^T [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_C \hat{\mathbf{z}} + \tau_R [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_C^T [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_C \hat{\mathbf{r}}_{2,1} \right) \\ & + \sqrt{2D_{1,2}} [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_C^T [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_C \boldsymbol{\eta}_{1c,2c}(t).\end{aligned}\quad (4.8)$$

Ovdje C označava Kartezijev koordinatni sustav koji smo postavili tako da je jedan pol diobenog vretena u ishodištu, a diobeno vreteno se proteže duž z -osi tako da je drugi pol u $(0, 0, L)$. Gornju jednadžbu možemo zapisati u matričnom obliku:

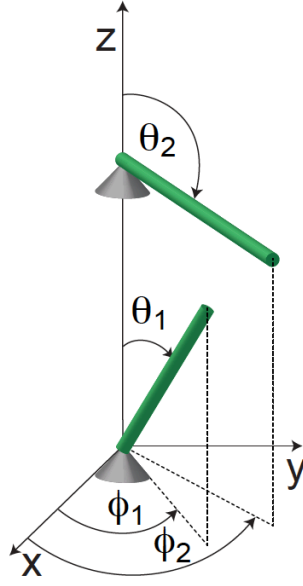
$$\begin{aligned}& \begin{bmatrix} \dot{\hat{r}}_{1x} \\ \dot{\hat{r}}_{1y} \\ \dot{\hat{r}}_{1z} \end{bmatrix} \\ &= \frac{D_1}{k_B T} \left(\tau_{1L} \begin{bmatrix} 0 & -\hat{r}_{1z} & \hat{r}_{1y} \\ \hat{r}_{1z} & 0 & -\hat{r}_{1x} \\ -\hat{r}_{1y} & \hat{r}_{1x} & 0 \end{bmatrix}^T \begin{bmatrix} 0 & -\hat{r}_{1z} & \hat{r}_{1y} \\ \hat{r}_{1z} & 0 & -\hat{r}_{1x} \\ -\hat{r}_{1y} & \hat{r}_{1x} & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} \right. \\ &+ \tau_R \begin{bmatrix} 0 & -\hat{r}_{1z} & \hat{r}_{1y} \\ \hat{r}_{1z} & 0 & -\hat{r}_{1x} \\ -\hat{r}_{1y} & \hat{r}_{1x} & 0 \end{bmatrix}^T \begin{bmatrix} 0 & -\hat{r}_{1z} & \hat{r}_{1y} \\ \hat{r}_{1z} & 0 & -\hat{r}_{1x} \\ -\hat{r}_{1y} & \hat{r}_{1x} & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{r}_{2x} \\ \hat{r}_{2y} \\ \hat{r}_{2z} \end{bmatrix} \\ &\left. + \sqrt{2D_1} \begin{bmatrix} 0 & -\hat{r}_{1z} & \hat{r}_{1y} \\ \hat{r}_{1z} & 0 & -\hat{r}_{1x} \\ -\hat{r}_{1y} & \hat{r}_{1x} & 0 \end{bmatrix}^T \begin{bmatrix} 0 & -\hat{r}_{1z} & \hat{r}_{1y} \\ \hat{r}_{1z} & 0 & -\hat{r}_{1x} \\ -\hat{r}_{1y} & \hat{r}_{1x} & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \eta_{1x} \\ \eta_{1y} \\ \eta_{1z} \end{bmatrix} \right).\end{aligned}\quad (4.9)$$

Matrični oblik za drugi jedinični vektor dobije se analogno.

4.2 Jednadžba gibanja u sfernim koordinatama

Da bismo odredili jesu li mikrotubuli vezani u svežanj, potrebno je znati kut između njih i kut koji zatvaraju s diobenim vretenom (vektor \mathbf{L} na slici 3.1). Zbog toga je potrebno transformirati jednadžbu (4.9) u sferne koordinate (Slika 4.1). Kartezijeve komponente jediničnih vektora i njegove derivacije po vremenu izražene u sfernim koordinatama iznose (analogno vrijedi za jedinični vektor $\hat{\mathbf{r}}_2$):

$$\begin{bmatrix} \hat{r}_{1x} \\ \hat{r}_{1y} \\ \hat{r}_{1z} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \sin\theta_1 \cos\varphi_1 \\ \sin\theta_1 \sin\varphi_1 \\ \cos\theta_1 \end{bmatrix}, \quad \begin{bmatrix} \dot{\hat{r}}_{1x} \\ \dot{\hat{r}}_{1y} \\ \dot{\hat{r}}_{1z} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos\theta_1 \cos\varphi_1 \dot{\theta}_1 - \sin\theta_1 \sin\varphi_1 \dot{\varphi}_1 \\ \cos\theta_1 \sin\varphi_1 \dot{\theta}_1 - \sin\theta_1 \cos\varphi_1 \dot{\varphi}_1 \\ -\sin\theta_1 \dot{\theta}_1 \end{bmatrix}. \quad (4.10)$$



Slika 4.1: Shema modela s prikazom koordinatnog sustava . Mikrotubuli (zeleno) s prikazanim sfernim kutovima θ_1 , φ_1 , θ_2 i φ_2 .

Transformacija Kartezijevih koordinata u sferne koordinate dana je relacijom $\hat{e}_\mu = \mathcal{R}\hat{e}_i$ gdje je $\mu = r, \theta, \varphi$ te $i = x, y, z$. \mathcal{R} je matrica transformacije:

$$\mathcal{R} = \begin{bmatrix} \sin\theta \cos\varphi & \sin\theta \sin\varphi & \cos\theta \\ \cos\theta \cos\varphi & \cos\theta \sin\varphi & -\sin\theta \\ -\sin\varphi & \cos\varphi & 0 \end{bmatrix}. \quad (4.11)$$

Vektori i tenzori transformiraju se kao $\hat{\mathbf{r}}_s = \mathcal{R} \hat{\mathbf{r}}_c$ i $[\hat{\mathbf{r}}_\times]_s = \mathcal{R} [\hat{\mathbf{r}}_\times]_c \mathcal{R}^T$. Primjenom tih pravila na (4.9) i korištenjem svojstva unitarnosti matrice \mathcal{R} , tj. $\mathcal{R}^{-1} = \mathcal{R}^T$, dobivamo:

$$\begin{aligned} \mathcal{R}_{1,2} \hat{\mathbf{r}}_{1c,2c} &= \frac{D_{1,2}}{k_B T} \left(\tau_{1L,2L} \mathcal{R}_{1,2} [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_c^T [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_c \hat{\mathbf{z}} \right. \\ &\quad \left. + \tau_R \mathcal{R}_{1,2} [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_c^T [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_c \hat{\mathbf{r}}_{2,1} \right) \\ &\quad + \sqrt{2D_{1,2}} \mathcal{R}_{1,2} [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_c^T [\hat{\mathbf{r}}_{1,2}^\times]_c \mathbf{n}_{1,2}(t). \end{aligned} \quad (4.12)$$

Nakon uvrštavanja (4.11) i množenja matrica dobijemo jednadžbu za promjenu kuta u vremenu:

$$\begin{aligned}
& \begin{bmatrix} \dot{\theta}_{1,2} \\ \dot{\phi}_{1,2} \end{bmatrix} \\
&= \frac{D_{1,2}}{k_B T} \left(\tau_{1L,2L} \begin{bmatrix} -\sin \theta_{1,2} \cos \theta_{1,2} \\ 0 \end{bmatrix} \right. \\
&+ \tau_R \begin{bmatrix} \sin \theta_{1,2} \sin \theta_{2,1} \cos(\varphi_{1,2} - \varphi_{2,1}) - \sin \theta_{1,2} \cos \theta_{2,1} \\ -\sin \theta_{2,1} \sin(\varphi_{1,2} - \varphi_{2,1}) / \sin \theta_{1,2} \end{bmatrix} \Bigg) \\
&+ \sqrt{2D_{1,2}} \begin{bmatrix} \cos \theta_{1,2} \cos \varphi_{1,2} & \cos \theta_{1,2} \sin \varphi_{1,2} & -\sin \theta_{1,2} \\ -\sin \varphi_{1,2} / \sin \theta_{1,2} & \cos \varphi_{1,2} / \sin \theta_{1,2} & 0 \end{bmatrix} \circ \begin{bmatrix} \eta_{1x,2x} \\ \eta_{1y,2y} \\ \eta_{1z,2z} \end{bmatrix}.
\end{aligned} \tag{4.13}$$

S obzirom da u sfernim koordinatama komponente šuma više nisu konstantne, jednadžba (4.13) predstavlja Stratonovich interpretaciju. Da bi dobili Itô interpretaciju te jednadžbe, šum u gornjoj jednadžbi zapisujemo kao $\sum_{i=x,y,z} \mathbf{V}_i \eta_i$, gdje su \mathbf{V}_i vektor stupci matrice koja množi šum:

$$\begin{aligned}
V_{1x,2x} &= \sqrt{2D_{1,2}} \begin{bmatrix} \cos \theta_{1,2} \cos \varphi_{1,2} \\ -\sin \varphi_{1,2} / \sin \theta_{1,2} \end{bmatrix}, \\
V_{1y,2y} &= \sqrt{2D_{1,2}} \begin{bmatrix} \cos \theta_{1,2} \sin \varphi_{1,2} \\ \cos \varphi_{1,2} / \sin \theta_{1,2} \end{bmatrix}, \quad V_{1z,2z} = \sqrt{2D_{1,2}} \begin{bmatrix} -\sin \theta_{1,2} \\ 0 \end{bmatrix}.
\end{aligned} \tag{4.14}$$

Da bi izračunali deterministički doprinos jednadžbi gibanja zbog promjene koordinatnog sustava koristimo formulu (1.37). Na kraju definiramo nove komponente šuma koje su linearne kombinacije komponenti po Kartezijevim osima:

$$\begin{aligned}
\eta_{\theta 1, \theta 2} &= \cos \theta_{1,2} \cos \varphi_{1,2} \eta_{1x,2x} + \cos \theta_{1,2} \sin \varphi_{1,2} \eta_{1y,2y} - \sin \theta_{1,2} \eta_{1z,2z}, \\
\eta_{1\varphi,2\varphi} &= -\sin \varphi_{1,2} \eta_{1x,2x} + \cos \varphi_{1,2} \eta_{1y,2y}.
\end{aligned} \tag{4.15}$$

Možemo primijetiti da vrijedi $\langle \eta_n(t), \eta_m(t') \rangle = \delta_{mn}$, za $m, n = \theta, \varphi$ tako da ovako odabrane komponente također čine Gaussov bijeli šum s jediničnom varijancom. Konačno, jednadžba gibanja u sfernim koordinatama glasi:

$$\begin{aligned}
& \begin{bmatrix} \dot{\theta}_{1,2} \\ \dot{\phi}_{1,2} \end{bmatrix} \\
&= D_{1,2} \left(\frac{\tau_{1L,2L}}{k_B T} \begin{bmatrix} -\sin \theta_{1,2} \cos \theta_{1,2} \\ 0 \end{bmatrix} \right. \\
&\quad \left. + \frac{\tau_R}{k_B T} \begin{bmatrix} \sin \theta_{1,2} \sin \theta_{2,1} \cos(\varphi_{1,2} - \varphi_{2,1}) - \sin \theta_{1,2} \cos \theta_{2,1} \\ -\sin \theta_{2,1} \sin(\varphi_{1,2} - \varphi_{2,1}) / \sin \theta_{1,2} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \cot \theta_{1,2} \\ 0 \end{bmatrix} \right) \\
&\quad + \sqrt{2D_{1,2}} \begin{bmatrix} \eta_{\theta 1, \theta 2} \\ \eta_{\varphi 1, \varphi 2} / \sin \theta_{1,2} \end{bmatrix}.
\end{aligned} \tag{4.16}$$

Prva dva člana sa desne strane su deterministički članovi, treći član javlja se zbog transformacije koordinatnog sustava koji smo dobili direktnom derivacijom vektora u jednadžbi (4.14), dok zadnji član predstavlja šum u kutnim varijablama.

4.3 Gustoća u adijabatskoj aproksimaciji

Diferencijalna jednadžba za gustoću vezujućih proteina dana je jednadžbom (3.8). Budući da je gibanje mikrotubula puno sporije od stope kojom se gustoća vezujućih proteina prilagođava novom položaju mikrotubula možemo računati u adijabatskoj aproksimaciji gdje pretpostavimo da nema promjene gustoće motornih proteina u vremenu:

$$0 = ck_{\text{on}} - k_{\text{off}}\rho - \frac{\partial j_1}{\partial r_1} - \frac{\partial j_2}{\partial r_2}. \tag{4.17}$$

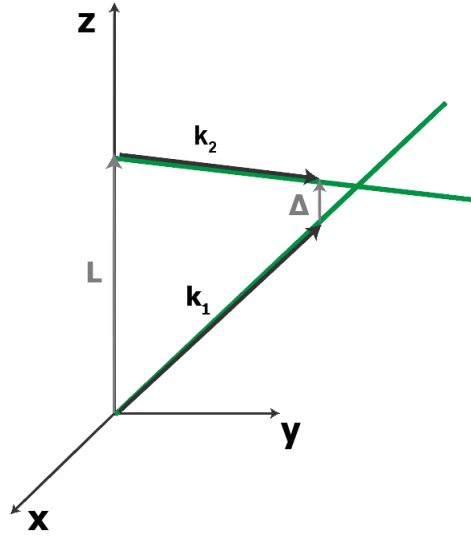
Gdje r_1 i r_2 predstavljaju udaljenost mjesta vezanja motornih proteina od polova diobenog vretena (sive kugle na slici 3.1). Da bismo pojednostavili rješavanje jednadžbe (4.17) uvodimo nove koordinate koje opisuju položaje duž mikrotubula tako da se ishodište nalazi na mjestu najkraće spojnice mikrotubula:

$$r'_{1,2} = r_{1,2} - k_{1,2}, \tag{4.18}$$

gdje $k_{1,2}$ predstavljaju udaljenosti od točaka najkraće spojnice mikrotubula do svakog od polova diobenog vretena.

Da bismo izračunali udaljenosti od točaka najkraće spojnice mikrotubula, prvo ćemo odrediti vektor najkraće spojnice, Δ . Iz slike 4.2 lako se može vidjeti da vektor najkraće spojnice zadovoljava:

$$\Delta = k_2 \hat{r}_2 + L - k_1 \hat{r}_1. \tag{4.19}$$



Slika 4.2: Prikaz promatranog sustava u Kartezijevom koordinatnom sustavu. Zelenom bojom označeni su pravci na kojima leže mikrotubuli. Polovi diobenog vretena smješteni su u točkama $(0, 0, 0)$ i $(0, 0, L)$. $\mathbf{k}_{1,2}$ su vektori koji se protežu do spojnice mikrotubula. Δ je iznos najkraće spojnice mikrotubula te je $\hat{\Delta}$ okomit na jedinične vektore mikrotubula $\hat{\mathbf{r}}_{1,2}$.

Vektor najkraće spojnice je okomit na oba mikrotubula te je stoga njegov jedinični vektor definiran kao: $\hat{\Delta} = \frac{\hat{\mathbf{r}}_1 \times \hat{\mathbf{r}}_2}{|\hat{\mathbf{r}}_1 \times \hat{\mathbf{r}}_2|}$. Ako jednadžbu (4.19) napišemo u Kartezijevim koordinatama dobivamo sustav jednadžbi iz kojeg možemo odrediti k_1 , k_2 i Δ :

$$\begin{aligned} & \begin{bmatrix} \sin\theta_2 \cos\varphi_2 \\ \sin\theta_2 \sin\varphi_2 \\ \cos\theta_2 \end{bmatrix} k_2 + \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ L \end{bmatrix} \\ &= \frac{|\Delta|}{|\hat{\mathbf{r}}_1 \times \hat{\mathbf{r}}_2|} \begin{bmatrix} \sin\theta_1 \sin\varphi_1 \cos\theta_2 - \cos\theta_1 \sin\theta_2 \sin\varphi_2 \\ -\sin\theta_1 \cos\varphi_1 \cos\theta_2 + \cos\theta_1 \sin\theta_2 \cos\varphi_2 \\ \sin\theta_1 \sin\theta_2 \sin(\varphi_1 - \varphi_2) \end{bmatrix} \quad (4.20) \\ &+ k_1 \begin{bmatrix} \sin\theta_1 \cos\varphi_1 \\ \sin\theta_1 \sin\varphi_1 \\ \cos\theta_1 \end{bmatrix} \end{aligned}$$

Sada elongaciju, \mathbf{y} , možemo napisati kao $\mathbf{y} = \Delta + \mathbf{y}_\perp$, gdje je $\mathbf{y}_\perp = \mathbf{r}'_2 - \mathbf{r}'_1$, a $\mathbf{r}'_{1,2} = r'_{1,2} \hat{\mathbf{r}}_{1,2}$. Uvrštavanjem izraza za elongaciju u jednadžbu za stopu spajanja motornih proteina na mikrotubul (3.9) dobivamo:

$$k_{\text{on}} = k_0 \exp \left[-\frac{k\Delta^2}{2k_B T} \right] \exp \left[-\frac{k(r_1'^2 + r_2'^2)}{2k_B T} + \frac{k(2r_1' r_2' \cos(\alpha))}{2k_B T} \right]. \quad (4.21)$$

Gdje je α kut koji mikrotubuli međusobno zatvaraju. Zbog toga što je $k/2k_B T \gg 1 \mu m^2$, jednadžbu (4.21) možemo pisati kao:

$$k_{on} = \frac{2\pi k_0 k_B T}{k} \exp \left[-\frac{k\Delta^2}{2k_B T} \right] \delta(r'_1) \delta(r'_2), \quad (4.22)$$

gdje su $\delta(r'_{1,2})$ Diracove delta funkcije, a koristili smo svojstvo $\lim_{a \rightarrow \infty} \sqrt{\frac{a}{\pi}} \exp(-ax^2) = \delta(x)$. Zbog toga što delta funkcija iščezava za $r'_1, r'_2 \neq 0$, eksponencijalna funkcija s miješanim članom $r'_1 r'_2$ u (4.21) neće mijenjati rezultat pa ju izostavljamo. Radi jednostavnosti zapisa uvodimo pokratu $k'_{on} = \frac{2\pi k_0 k_B T}{k} \exp \left[-\frac{k\Delta^2}{2k_B T} \right]$. Konačni izraz za stopu spajanja motornih proteina na mikrotubule glasi:

$$k_{on} = k'_{on} \delta(r'_1) \delta(r'_2). \quad (4.23)$$

Motorni proteini vezat će se na mjestu $r'_1 = r'_2 = 0$ što odgovara položaju najkraće spojnice. Brzine motornih proteina u crtanim koordinatama glase:

$$v_{1,2} = v_0 \left[1 + \frac{k}{f_0} (r'_{1,2} - r'_{2,1} \cos(\alpha)) \right]. \quad (4.24)$$

Da bismo pojednostavili rješavanje jednadžbe (4.17) definirat ćemo nove koordinate u kojima je ona separabilna:

$$u \equiv \frac{r'_1 + r'_2}{2} \quad (4.25)$$

$$w \equiv \frac{r'_1 - r'_2}{2} \quad (4.26)$$

Jednadžba gustoće u adijabtskoj aproksimaciji izražena u novim koordinatama glasi:

$$0 = ck_{on} - k_{off} \rho(u, w) - \frac{\partial j_u}{\partial u} - \frac{\partial j_w}{\partial w}, \quad (4.27)$$

gdje je $\rho(u, w)$ gustoća u novim koordinatama, a $j_{u,w} = v_{u,w} \rho$ su struje. U ovom smo izrazu za struju zanemarili difuzijski član te smo time reducirali red diferencijalne jednadžbe koju rješavamo. Brzine u novim koordinatama, v_u i v_w , možemo izračunati uvrštavanjem jednadžbe (4.24) u izraz $v_{u,w} = \frac{v_1 \pm v_2}{2}$ iz čega se dobije:

$$v_u = v_0 \left(1 + \frac{ku}{f_0} (1 - \cos(\alpha)) \right) \quad (4.28)$$

$$v_w = \frac{v_0 k w}{f_0} (1 + \cos(\alpha)) \quad (4.29)$$

Uvrštavanjem u jednadžbu (4.27) dobivamo:

$$\begin{aligned} -v_0 \left[1 + \frac{k u}{f_0} (1 - \cos(\alpha)) \right] \rho_w \frac{\partial \rho_u}{\partial u} + \frac{k v_0 w}{f_0} (1 + \cos(\alpha)) \rho_u \frac{\partial \rho_w}{\partial u} + \\ \left(\frac{2 k v_0}{f_0} - k_{\text{off}} \right) \rho_u \rho_w = k'_{\text{on}} \delta(u) \delta(w). \end{aligned} \quad (4.30)$$

Homogeno rješenje gornje jednadžbe tražimo separacijom varijabli. Pretpostavljamo rješenja oblika $\rho(u, w) = \rho_u(u) \delta(w)$, gdje Diracova delta funkcija predstavlja gibanje motora u kojem su pomaci uzduž oba mikrotubula jednaki. Uvrštavanjem tog rješenja u jednadžbu (4.30) dobivamo homogeno rješenje za gustoću motornih proteina u u i w koordinatama:

$$\rho_h(u, w) = c_h \left[1 + \frac{k u}{f_0} (1 - \cos(\alpha)) \right]^{-1 + \frac{k_{\text{off}} f_0}{v_0 k (1 - \cos(\alpha))}} \delta(w) \quad (4.31)$$

gdje je c_h konstanta integracije. S obzirom na to da je jednadžba (4.30) ekvivalentna homogenoj jednadžbi u svim točkama osim u točki $u = 0$, funkcijski se oblik partikularnog rješenja poklapa s homogenim rješenjima u svim preostalim točkama, dok je vrijednost konstante integracije različita za pozitivne i negativne vrijednosti varijable u . Stoga, možemo partikularno rješenje zapisati u obliku

$$\begin{aligned} \rho_p(u, w) = c_p \left[1 + \frac{k u}{f_0} (1 - \cos(\alpha)) \right]^{-1 + \frac{k_{\text{off}} f_0}{v_0 k (1 - \cos(\alpha))}} \delta(w) \times \\ \times \Theta(u + w) \Theta(r_{\text{stall}} - u - w), \end{aligned} \quad (4.32)$$

gdje konstantu c_p još trebamo odrediti, a r_{stall} je udaljenost na kojoj se motorni proteini zaustave. Iznos r_{stall} dobijemo iz uvjeta da je brzina motora nula: $r_{\text{stall}} \equiv \frac{-f_0}{k(1 - \cos(\alpha))}$. Ukoliko se motori gibaju prema slobodnom kraju mikrotubula ($v_0 > 0$ i $f_0 < 0$) r_{stall} će biti pozitivan, a ako se motori gibaju prema polu diobenog vretena ($v_0 < 0$ i $f_0 > 0$) r_{stall} će biti negativan.

Do sada je u modelu kretanje motora moglo biti u oba smjera, a ovisno je o parametrima v_0 i f_0 . Na ovom mjestu tražimo rješenja modela za slučaj kada je smjer kretanja motora prema polu, ali se rješenja za kretanje prema drugom kraju mikrotubula mogu dobiti analogno. Odabirom konstante integracije $c_h = 0$ zadovoljeni su rubni uvjeti da gustoće iščezavaju lijevo i desno od područja $[0, r_{\text{stall}}]$. Da bi imali potpunu funkciju

gustoće motornih proteina moramo odrediti konstantu integracije c_p . Nju ćemo dobiti tako da integriramo jednadžbu (4.30) u ϵ okolini točke u kojoj se vežu motorni proteini te korištenjem rubnog uvjeta $\rho(\epsilon, w) = 0$. Ovaj rubni uvjet osigurava da iznad točke vezanja motora na mikrotubule nema vezujućih proteina budući da razmatramo motorne proteine koji se gibaju prema polu. Nakon izračuna konstante integracije, jednadžba za gustoću motornih proteina u u i w koordinatama glasi:

$$\rho(u, w) = \frac{k'_{on}}{|v_0|} \left[1 + \frac{ku}{f_0} (1 - \cos(\alpha)) \right]^{-1 + \frac{k_{off} f_0}{v_0 k (1 - \cos(\alpha))}} \delta(w) \times \quad (4.33)$$

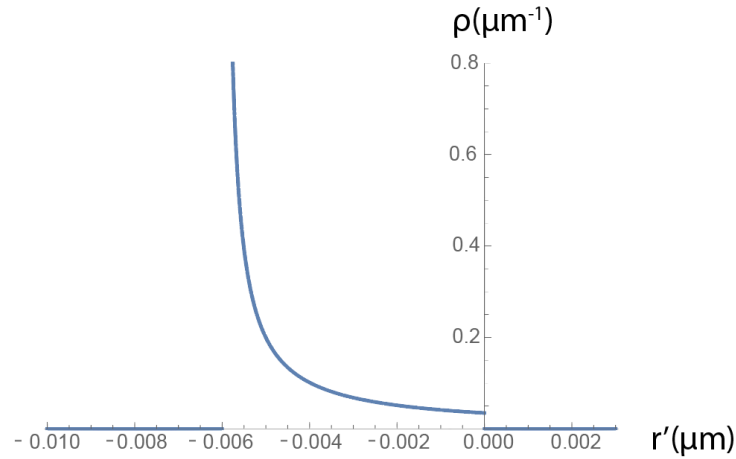
$$\times \Theta(u + w) \Theta(r_{stall} - u - w)$$

Uvrštavanjem izraza (4.25) i (4.26) u gornju jednadžbu dobivamo gustoću u koordinatama $r'_{1,2}$:

$$\rho(r'_1, r'_2) = \frac{k'_{on}}{|v_0|} \left[1 + \frac{k(r'_1 + r'_2)}{2f_0} (1 - \cos(\alpha)) \right]^{-1 + \frac{k_{off} f_0}{v_0 k (1 - \cos(\alpha))}} \times \quad (4.34)$$

$$\times \delta(r'_1 - r'_2) \Theta(r'_1) \Theta(r_{stall} - r'_1)$$

Gornja jednadžba je različita od nule samo za $r'_1 = r'_2$ pa gustoću možemo pisati kao funkciju jedne varijable $\rho(r')$. Na slici 4.3 prikazana je funkcionalna ovisnost gustoće motornih proteina o položaju na mikrotubulu.



Slika 4.3: Ovisnost gustoće motornih proteina $\rho(r')$ o položaju na mikrotubulu r' . Kutovi koje smo koristili su $\theta_1 = \pi/3$, $\theta_2 = 2\pi/3$, $\Delta\varphi = 0$.

Parametri koje smo koristili da bi prikazali jednadžbu (4.34) dani su u Tablici 4.1. Motorni proteini se vežu na uskom području oko najkraće spojnice ($r' = 0$ na slici 4.3), nakon čega

se kreću prema polu diobenog vretena. Kad sila koja djeluje na njih postane prejak oni se zaustave na položaju r_{stall} , gdje se i nakupljaju.

| Parametri | Vrijednost | Izvor |
|------------------|------------------------------|------------------------|
| L | $2 \mu\text{m}$ | Ref. ²² |
| v_0 | $-0.03 \mu\text{m/s}$ | Ref. ²⁶ |
| f_0 | 3 pN | Ref. ²⁶ |
| k | $500 \text{ pN}/\mu\text{m}$ | Ref. ^{27, 28} |
| k_0 | 0.02 s^{-1} | Ref. ²⁹ |
| k_{off} | 0.1 s^{-1} | Ref. ^{27, 29} |
| c | $1000 \mu\text{m}^{-1}$ | Procijenjeno |

Tablica 4.1: Parametri korišteni u ovom radu.

4.4 Deterministički momenti

Da bi dobili moment sile koji dolazi od djelovanja motornih proteina na mikrotubule moramo izračunati integrale gustoće koje smo označili sa $\tau_{1L,2L}$ i τ_R . Integral gustoće τ_{1L} glasi:

$$\tau_{1L} = k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_1 L \rho(r_1, r_2) dr_1 dr_2. \quad (4.35)$$

Ovaj integral računat ćemo u crtanim koordinatama. Nakon uvrštavanja jednadžbe (4.34), integral u crtanim koordinatama poprima oblik:

$$\begin{aligned} \tau_{1L} &= \frac{kLk'_{\text{on}}}{v_0} \int_{-k_1}^{R_1-k_1} \int_{-k_2}^{R_2-k_2} (r'_1 - k_1) \left(1 - \frac{k(r'_1 + r'_2)}{2f_0} (1 - \cos(\alpha)) \right)^{-1 + \frac{k_{\text{off}}f_0}{v_0k(1-\cos(\alpha))}} \times \\ &\quad \times \delta(r'_1 - r'_2) \Theta(r'_1) \Theta(r_{\text{stall}} - r'_1) dr'_1 dr'_2. \end{aligned} \quad (4.36)$$

Nakon integriranja konačni izraz za τ_{1L} glasi:

$$\begin{aligned} \tau_{1L} &= \frac{kLk'_{\text{on}}}{2k_{\text{off}}} \left(k_1 + \frac{f_0 v_0}{f_0 k_{\text{off}} + k v_0 (1 - \cos(\alpha))} \right) \times \\ &\quad \times \Theta(R_1 - k_1) \Theta(k_1) \Theta(R_2 - k_2) \Theta(k_2). \end{aligned} \quad (4.37)$$

Drugi integral gustoće, τ_{1R} , dobijemo iz:

$$\tau_{1R} = k \int_0^{R_1} \int_0^{R_2} r_1 r_2 \rho(r_1, r_2, t) dr_1 dr_2. \quad (4.38)$$

Analogno kao pri izračunu τ_{1L} , integral računamo u crtanim koordinatama. Konačni izraz za τ_{1R} glasi:

$$\begin{aligned} \tau_{1R} &= \frac{k k'_{\text{on}}}{k_{\text{off}}} \left(k_1 k_2 + \frac{(k_1 + k_2) f_0 v_0}{f_0 k_{\text{off}} + k v_0 (1 - \cos \alpha)} \right. \\ &\quad \left. + \frac{2 f_0^2 v_0^2}{f_0^2 k_{\text{off}}^2 + 3 f_0 k k_{\text{off}} v_0 + 3 k^2 v_0^2 + k v_0 (- (3 f_0 k_{\text{off}} - 4 k v_0) \cos \alpha + k v_0 \cos 2\alpha)} \right) \times \\ &\quad \times \Theta(k_2) \Theta(k_1) \Theta(R_2 - k_2) \Theta(R_1 - k_1) \end{aligned} \quad (4.39)$$

Ako dobivene izraze za τ_{1L} i τ_{1R} uvrstimo u jednadžbu (4.16) dobivamo jednadžbe gibanja za $\theta_{1,2}$ i $\varphi_{1,2}$.

Da bi se antiparalelni svežnjevi mogli formirati presudno je gibanje mikrotubula u $\theta_{1,2}$ smjeru. Jednadžba gibanja koja opisuje promjenu kuta $\theta_{1,2}$ dana je izrazom:

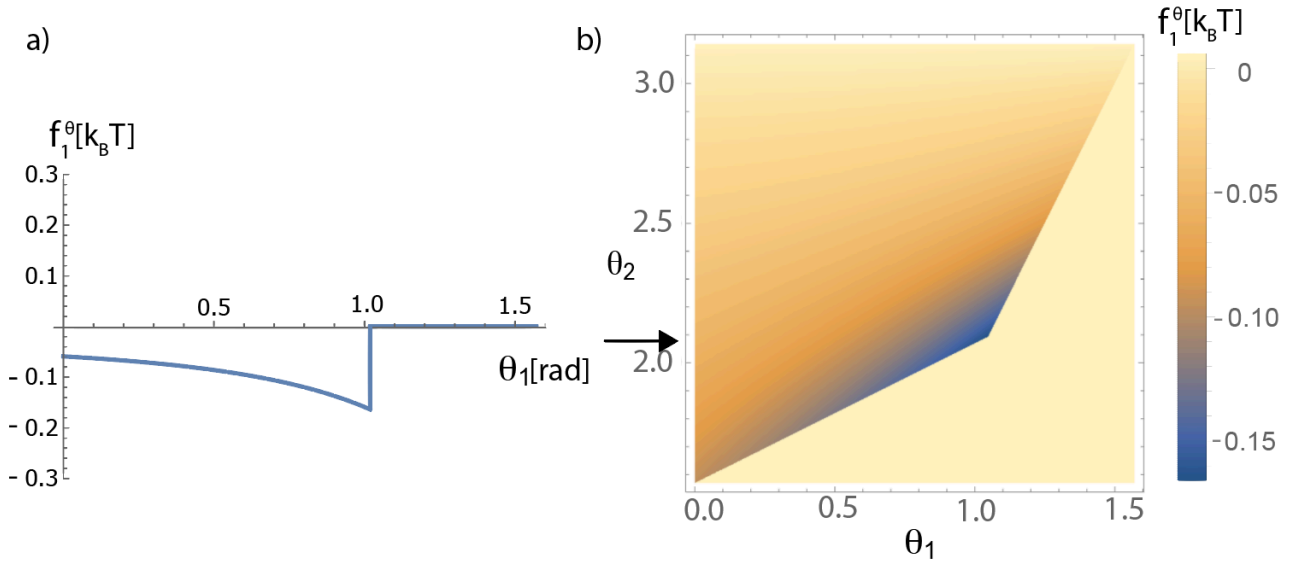
$$\dot{\theta}_{1,2} = \frac{D_{1,2}}{k_B T} f_{1,2}^\theta + D_{1,2} \cot \theta_{1,2} + \sqrt{2 D_{1,2}} \eta_{\theta_{1,2}}. \quad (4.40)$$

gdje je $f_{1,2}^\theta$ predstavlja generaliziranu silu uzrokovanu motornim proteinima. Ona je dana izrazom:

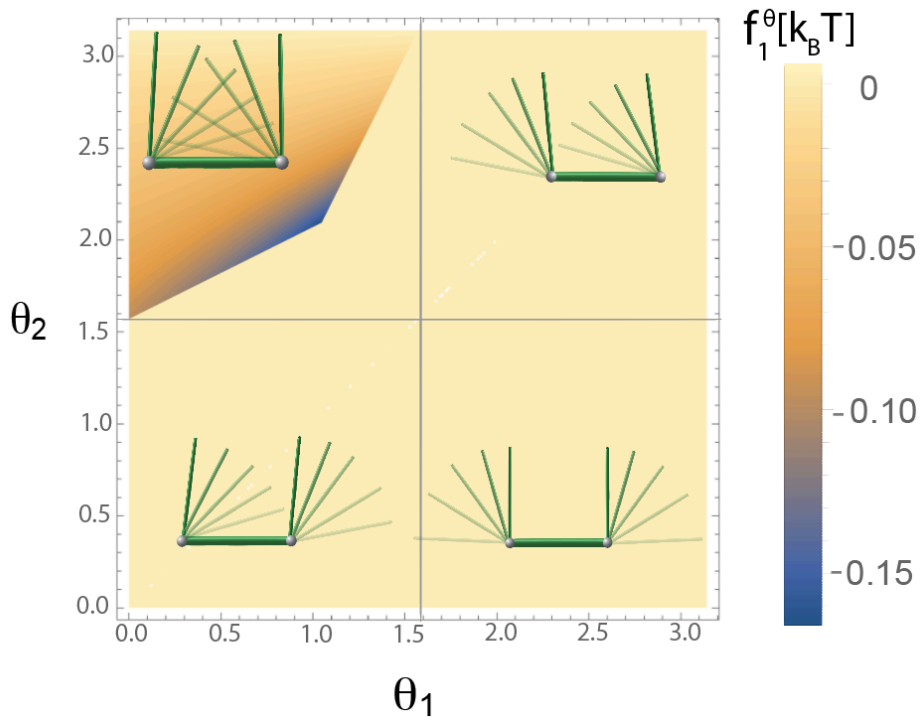
$$\begin{aligned} f_{1,2}^\theta &\equiv -\tau_{1L,2L} \sin \theta_{1,2} \cos \theta_{1,2} \\ &\quad + \tau_R (\sin \theta_{1,2} \sin \theta_{2,1} \cos \Delta \varphi - \sin \theta_{1,2} \cos \theta_{2,1}). \end{aligned} \quad (4.41)$$

Na slici 4.4 a) prikazano je kako se generalizirana sila koja utječe na polarni kut θ_1 , f_1^θ , mijenja u ovisnosti o tom kutu kad je $\theta_2 = 2\pi/3$. Iz grafa vidimo da imamo djelovanje privlačne sile u području $0 < \theta_1 < \pi/3$. U tom rasponu kutova motorni proteini vežu se na mikrotubule te djeluju privlačnim silama. Za $\theta_1 > \pi/3$ sila isčezava budući da su mikrotubuli predaleko da bi se motorni proteini spojili na njih. Graf 4.4 b) nam prikazuje kako se mijenja generalizirana sila u ovisnosti o θ_1 i θ_2 . Plave boje na grafu označavaju veću privlačnu silu. Strelica označava kut $\theta_2 = 2\pi/3$ te ako pratimo smjer strelice vidjeti ćemo da se najveća privlačna sila javlja kad je $\theta_1 \approx \pi/3$, kao što smo dobili i na slici 4.3 a). Primijetimo da se kutovi u slici 4.4b) prikazani u rasponu $0 < \theta_1 < \pi/2$ i $\pi/2 < \theta_2 < \pi$ no znamo da su θ_1 i θ_2 definirani u području $[0, \pi]$, stoga su je na slici 4.5 prikazana ovisnost f_1^θ o θ_1 i θ_2 za sve moguće vrijednosti kutova. Za ovako odabrane parametre

zanimljivo područje je ono prikazano na slici 4.4 b) budući da se u ostalim slučajevim mikrotubuli ne dodiruju.



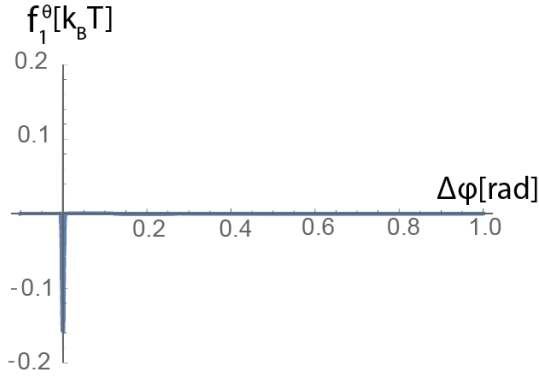
Slika 4.4: Generalizirana sila f_1^θ . a) Ovisnost f_1^θ o kutu θ_1 . Parametri su: $\theta_2 = 2\pi/3$, $\Delta\varphi = 0$, $R_1 = R_2 = 2\mu m$. b) Graf koji prikazuje f_1^θ u ovisnosti o kutovima θ_1 i θ_2 . Crna strelica označava kut $\theta_2 = 2\pi/3$ koji smo promatrali na slici a). Ostali parametri su kao u Tablici 1.



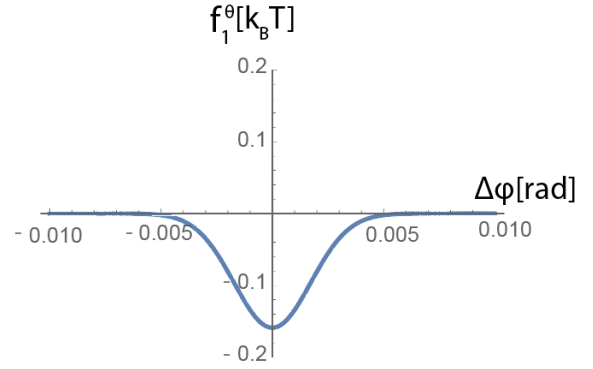
Slika 4.5: Ovisnost f_1^θ o polarnim kutovima θ_1 , θ_2 . Parametri su: $R_1 = R_2 = 2\mu m$, a ostali kao u Tablici 1.

Do sada smo promatrali generaliziranu silu u ovisnosti o promjeni kutova θ_1 i θ_2 , pri čemu smo stavili da je $\Delta\varphi = 0$ što odgovara slučaju kad je najkraća spojnica $\Delta = 0$, odnosno mikrotubuli se dodiruju.

a)



b)



Slika 4.6: Ovisnost komponente torzije o razlici azimutalnih kutova $\Delta\varphi$. a) Za velike kutove $\Delta\varphi$. b) Za male kutove $\Delta\varphi$. Parametri su: $\theta_1 = \pi/3$, $\theta_2 = 2\pi/3$, $R_1 = R_2 = 2\mu m$, a ostali kao u Tablici 1.

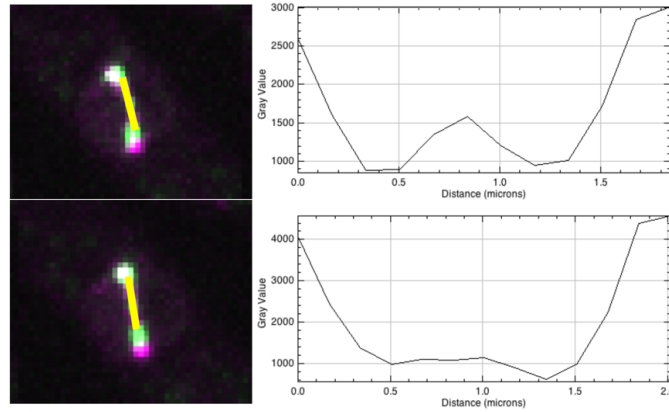
Na slici 4.6 prikazani su grafovi ovisnosti generalizirane sile o $\Delta\varphi$. Možemo primijetiti da je moment sile različit od nule samo za vrlo male vrijednosti $\Delta\varphi$ (slika 4.6 a). Mala vrijednost $\Delta\varphi$ odgovara slučaju kad su mikrotubuli vrlo blizu jedan drugome te najkraća spojnica između mikrotubula ima malu vrijednost. To odgovara onome što smo dobili u izrazu za stopu k_{on} koja eksponencijalno opada s Δ^2 . Na slici 4.6 b) prikazano je područje malih kutova u kojem je f_1^θ različit od nule. Maksimalna privlačna sila se dostiže kad je $\Delta\varphi = 0$. Povećanjem razlike kutova privlačna sila opada te postiže nulu već za $\Delta\varphi = 0.005 \text{ rad}$ (0.3°).

5 Zaključak i budući ciljevi

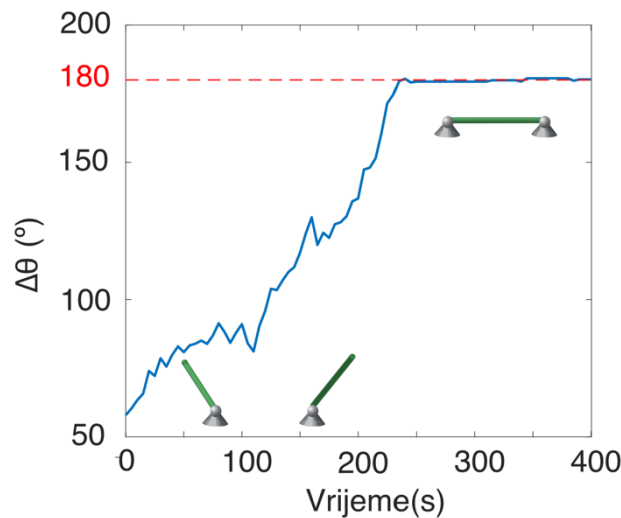
Cilj ovog diplomskog rada bio je bolje razumjeti dinamiku formiranja anriparalelnih svežnjeva koji formiraju diobeno vreteno. Stoga smo promatrali promjenu orijentacije mikrotubula oko polova diobenog vretena koju smo opisali Langevineovom jednadžbom. Deterministički član te jednadžbe ovisi o raspodjeli gustoće vezujućih proteina, dok stohastički član dolazi od termalnih fluktuacija. Budući da nas zanima kako se mijenjaju kutovi koje mikrotubuli zatvaraju s diobenim vretenom bilo je pogodno rješavati jednadžbu gibanja u sfernim koordinatama. Za rješavanje tih jednadžbi izračunali smo sile kojima motorni proteini djeluju na mikrotubule. Prostornu raspodjelu motorinih proteina dobili rješavanjem diferencijalne jednadžbe u adijabatskoj aproksimaciji, s obzirom na to da se motorni proteini brzo prilagode novom položaju mikrotubula. Mjesto gdje će se motorni proteini vezati je u blizini točke najkraće spojnice dva mikrotubula, s obzirom na to da su istegnuća proteina mala u odnosu na duljinu mikrotubula. Nakon što se vežu za mikrotubule, motorni se proteini gibaju prema polu diobenog vretena te pri tom se rastežu generirajući silu koja se protivi rastezanju. Kada sila dosegne graničnu vrijednost, motori se prestaju kretati. Također smo izračunali generaliziranu silu koja mijenja kutove mikrotubule. U području kuteva $\theta_{1,2}$ gdje su mikrotubuli blizu jedan drugome djeluje privlačna sila na mikrotubule. Upravo ta privlačna sila dovodi do antiparalelnog organiziranja. Na kraju smo promatrali kako komponenta sile ovisi o $\Delta\varphi$ te smo dobili da mikrotubuli najveće privlačenje osjećaju kad je $\Delta\varphi = 0$ što odgovara situaciji kad se mikrotubuli dodiruju. Za korištene parametre privlačna sila isčezava već kad se $\Delta\varphi$ poveća za 0.3° .

Daljnji ciljevi projekta su naći parametre za koje nastaju stabilni svežnjevi mikrotubula, odrediti koje su vremenske skale nastajanja svežnjeva te usporedba s eksperimentalnim rezultatima. Nakupljanje motornih proteina koje smo opazili slici 1.4 želimo usporediti s gustoćama koje smo izračunali u našem modelu. Na slici 6.1 prikazani su profili intenziteta duž žute linije. U gornjem isječku mikrotubuli se nalaze pod nekim kutem te na slici 2.2 možemo opaziti zeleni signal koji se javlja na mjestu gdje se mikrotubuli spajaju. Intenzitet zelenog signala prikazan je na grafu pokraj isječka. Skok intenziteta na periferiji grafa odgovara području blizu polova diobenog vretena gdje dolazi do nakupljanja motora. Nakupljanje motora na spojnici mikrotubula odgovara povećanju intenziteta na sredini. U donjem isječku mikrotubuli su formirali antiparalelni svežanj ako

pogledamo profil intenziteta duž svežnja opaziti ćemo da je on slabiji i širi u odnosu na situaciju kad su mikrotubuli bili pod kutem, što dolazi zbog raspodjele motora duž cijelog preklopa mikrotubula, koji je velik kad su oni antiparalelni. Da bi zeleni signal povezali s gustoćama treba ga detaljnije analizirati.



Slika 6.1: Profili intenziteta duž žutih linija. S lijeve strane su isječki eksperimentalnih snimaka u trenutku kad se mikrotubuli dotaknu pod nekim kutem (gore) te u trenutku kad je diobeno vretno formirano (dolje). S lijeve strane prikazani su profili intenziteta koji pokazuju da zeleni signal (kojima su označeni motorni proteini) je jači kad se mikrotubuli tek dotaknu nego kad je antiparalelni svežanj već formiran.



Slika 6.2: Prikaz promjene kuta $\Delta\theta$ u vremenu. Graf je dobiven praćenjem položaja mikrotubula na eksperimentalnim snimkama. U prvom dijelu grafa mikrotubuli slobodno pivotiraju. Nakon ~ 240 s kut između mikrotubula postaje 180° što upućuje na antiparalelnu organizaciju mikrotubula.

Praćenjem položaja mikrotubula u eksperimentalnim snimkama u programu Fiji možemo dobiti kako se mijenja ovisnost kuta između mikrotubula u vremenu (slika 6.2). Prvi dio grafa na slici odgovara slobodnom pivotiranju mikrotubula, a nakon oko 250

sekundi mikrotubuli postanu antiparalelni, te ostaju u tom položaju. Naš model mora biti u mogućnosti reproducirati ovakvo ponašanje u kompjutorskim simulacijama.

Diobeno vreteno čine paralelni i antiparalelni svežnjevi. Ovaj model nastao je kao generalizacija teorijskog modela za formiranje paralelnih svežnjeva. Mehanizmi stvaranja paralelnih i antiparalelnih svežnjeva pridonose boljem razumijevanju samoorganizacije diobenog vretena. Spomenuta dva modela odnose se na formiranje jednog svežnja, stoga se direktno mogu primijeniti na jednostavna, štapičasta diobena vretena kao u stanicama kvasca *S. pombe*. U svim diobenim vretenima, većina mikrotubula je organizirana u svežnjeve pa su ovi modeli relevantni i za diobena vretena viših eukariota. U višim eukariotima diobeno vreteno sastoji se od mnogo paralelnih i antiparalelnih svežnjeva, umjesto jednog svežnja kao kod *S. Pombe*^{2, 16}. Ti svežnjevi tijekom mitoze ostaju odvojeni, stoga je razumijevanje mehanizma stvaranja paralelnih i antiparalelnih svežnjeva dobra podloga za istraživanja samoorganizacije diobenih vretena kompleksnijeg izgleda.

Literatura

1. Pavin, N. & Tolic, I.M. Self-Organization and Forces in the Mitotic Spindle. *Annu Rev Biophys* **45**, 279-298 (2016).
2. Nédélec, F. Computer simulations reveal motor properties generating stable antiparallel microtubule interactions. *The Journal of cell biology* **158**, 1005-1015 (2002).
3. Cytrynbaum, E.N., Scholey, J.M. & Mogilner, A. A force balance model of early spindle pole separation in Drosophila embryos. *Biophys J* **84**, 757-769 (2003).
4. Cytrynbaum, E.N., Sommi, P., Brust-Mascher, I., Scholey, J.M. & Mogilner, A. Early spindle assembly in Drosophila embryos: role of a force balance involving cytoskeletal dynamics and nuclear mechanics. *Mol Biol Cell* **16**, 4967-4981 (2005).
5. Burbank, K.S., Mitchison, T.J. & Fisher, D.S. Slide-and-cluster models for spindle assembly. *Current Biology* **17**, 1373-1383 (2007).
6. Loughlin, R., Heald, R. & Nedelec, F. A computational model predicts Xenopus meiotic spindle organization. *J Cell Biol* **191**, 1239-1249 (2010).
7. Reber, S.B. *et al.* XMAP215 activity sets spindle length by controlling the total mass of spindle microtubules. *Nat Cell Biol* **15**, 1116-1122 (2013).
8. Bragues, J. & Needleman, D. Physical basis of spindle self-organization. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 18496-18500 (2014).
9. Paul, R. *et al.* Computer simulations predict that chromosome movements and rotations accelerate mitotic spindle assembly without compromising accuracy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **106**, 15708-15713 (2009).
10. Magidson, V. *et al.* The spatial arrangement of chromosomes during prometaphase facilitates spindle assembly. *Cell* **146**, 555-567 (2011).
11. Civelekoglu-Scholey, G. & Scholey, J.M. Mitotic force generators and chromosome segregation. *Cell Mol Life Sci* **67**, 2231-2250 (2010).
12. Mogilner, A. & Craig, E. Towards a quantitative understanding of mitotic spindle assembly and mechanics. *J Cell Sci* **123**, 3435-3445 (2010).
13. Mogilner, A., Wollman, R., Civelekoglu-Scholey, G. & Scholey, J. Modeling mitosis. *Trends Cell Biol* **16**, 88-96 (2006).
14. Howard, J. Mechanics of motor proteins and the cytoskeleton. (2001).
15. Kirschner, M. & Mitchison, T. Beyond self-assembly: from microtubules to morphogenesis. *Cell* **45**, 329-342 (1986).
16. McDonald, K.L., O'Toole, E.T., Mastronarde, D.N. & McIntosh, J.R. Kinetochore microtubules in PTK cells. *J Cell Biol* **118**, 369-383 (1992).
17. Mastronarde, D.N., McDonald, K.L., Ding, R. & McIntosh, J.R. Interpolar spindle microtubules in PTK cells. *J Cell Biol* **123**, 1475-1489 (1993).
18. Ding, R., McDonald, K.L. & McIntosh, J.R. Three-dimensional reconstruction and analysis of mitotic spindles from the yeast, *Schizosaccharomyces pombe*. *J Cell Biol* **120**, 141-151 (1993).
19. Van Kampen, N.G. *Stochastic processes in physics and chemistry*, Vol. 1. (Elsevier, 1992).
20. Hsu, E.P. *Stochastic analysis on manifolds*, Vol. 38. (American Mathematical Soc., 2002).
21. Prelogović, M., Winters, L., Milas, A., Tolić, I., Pavin, N. (Unpublished manuscript; 2016.).
22. Kalinina, I. *et al.* Pivoting of microtubules around the spindle pole accelerates kinetochore capture. *Nature cell biology* **15**, 82-87 (2013).

23. Fu, C. *et al.* Phospho-regulated interaction between kinesin-6 Klp9p and microtubule bundler Aselp promotes spindle elongation. *Dev Cell* **17**, 257-267 (2009).
24. Hagen, I. & Yanagida, M. Novel potential mitotic motor protein encoded by the fission yeast *cut7+*. *Nature* **347**, 563-566 (1990).
25. Le Guellec, R., Paris, J., Couturier, A., Roghi, C. & Philippe, M. Cloning by differential screening of a *Xenopus* cDNA that encodes a kinesin-related protein. *Molecular and cellular biology* **11**, 3395-3398 (1991).
26. Edamatsu, M. Bidirectional motility of the fission yeast kinesin-5, Cut7. *Biochem Biophys Res Commun* **446**, 231-234 (2014).
27. Kawaguchi, K., Uemura, S. & Ishiwata, S. Equilibrium and transition between single- and double-headed binding of kinesin as revealed by single-molecule mechanics. *Biophys J* **84**, 1103-1113 (2003).
28. Jeney, S., Stelzer, E.H., Grubmuller, H. & Florin, E.L. Mechanical properties of single motor molecules studied by three-dimensional thermal force probing in optical tweezers. *Chemphyschem* **5**, 1150-1158 (2004).
29. Ananthanarayanan, V. *et al.* Dynein motion switches from diffusive to directed upon cortical anchoring. *Cell* **153**, 1526-1536 (2013).